

X

# ANNALES

## DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDEES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

**E. DUCLAUX**

---

COMITÉ DE RÉDACTION

**D<sup>r</sup> CALMETTE**, sous-directeur de l'Institut Pasteur  
**D<sup>r</sup> LAVERAN**, membre de l'Institut de France ;  
**D<sup>r</sup> L. MARTIN**, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;  
**D<sup>r</sup> ROUX**, directeur de l'Institut Pasteur ;  
**D<sup>r</sup> VAILLARD**, membre de l'Académie de Médecine.

---

TOME TRENTE-QUATRIÈME

1920

AVEC 21 PLANCHES

---

PARIS

**MASSON ET C<sup>ie</sup>**, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6<sup>e</sup>).

QR  
1  
A475  
v.34  
1920  
PER

# THE

## LIBRARY

OF THE

UNIVERSITY OF

CHICAGO

1887

THE UNIVERSITY OF CHICAGO  
LIBRARY  
1887

1887

---

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## MOUVEMENTS DES LEUCOCYTES ET QUELQUES TACTISMES ÉTUDIÉS A L'AIDE DE L'ENREGISTREMENT CINÉMATOGRAPHIQUE

par J. COMANDON.

### I. — Mouvements des leucocytes.

#### A. — *Forme de ces mouvements.*

Pour faire l'étude des mouvements d'un leucocyte, en général on observe cette cellule au microscope, et on dessine à la chambre claire son contour et quelques points de sa structure interne, par exemple toutes les deux minutes. Ranvier [37], puis plus tard Jolly [22] ont ainsi opéré leurs remarquables recherches.

Cet examen est extrêmement fatigant. On ne peut suivre ainsi qu'un très petit nombre de cellules dans une même préparation.

Le cinématographe nous permet de prendre des photographies à intervalles de temps très rapprochés. Par la projection animée, nous étudions le mouvement, d'autant plus aisément que nous accélérons sa vitesse à volonté. Nous rendons ainsi perceptibles à notre vue des mouvements invisibles normalement, parce qu'ils sont trop lents [40]. Enfin, les photographies obtenues peuvent être étudiées séparément; en faisant un



calque de chaque image, il est facile de se rendre compte des modifications de la forme et de la situation des globules blancs.

Le mouvement de reptation du leucocyte, comme celui de l'Amibe ou du Myxomycète, dérive du mouvement du protoplasme, dont on s'aperçoit par l'entraînement des granulations à l'intérieur de la cellule.

Mais, en dehors de ces déplacements lents, selon des courants de directions déterminées, les granulations des leucocytes sont parfois animées par des trépidations rapides, irrégulières, que nous avons assimilées au mouvement brownien ou mouvement moléculaire.

Achard et Ramond [4], qui ont aussi étudié ce phénomène, arrivent à la même conclusion que nous. Ce dernier mouvement ne se voit bien qu'à l'ultra-microscope ; pour en avoir l'inscription cinématographique, il faut que la prise de vues se fasse à une allure rapide. Nous avons fait remarquer que ce mouvement moléculaire n'a pas lieu quand le leucocyte est rétracté. Il est intense et généralisé quand la cellule est altérée, en particulier quand elle est gonflée par une solution hypotonique.

A l'état physiologique, les granulations sont animées de mouvements browniens, seulement à l'endroit de la cellule où se forme un pseudopode, à la limite de l'endoplasme et de l'ectoplasme hyalin. Ce qui nous semble prouver que le protoplasme, à cet endroit, possède une viscosité beaucoup moins grande que dans le reste de la cellule.

Nous avons abandonné l'éclairage sur fond noir quand il s'agit de cinéphotographier une plage de la préparation pendant plusieurs heures, tout en altérant le moins possible les éléments vivants ; nous en verrons plus loin la raison. Notre technique est, avec peu de variante, celle que nous avons indiquée dans nos publications précédentes [12, 13, 15].

La lame porte-objet et la lamelle doivent être parfaitement propres.

Une goutte de sang est déposée sur la lame et recouverte d'une lamelle, de façon à éviter les bulles d'air. La grosseur de la goutte est telle, que le sang s'étale jusqu'aux bords de la lamelle, sans former une couche trop épaisse. Pour le sang humain, l'épaisseur optimum se reconnaît à ce que les hématies restent disposées en piles de monnaies. Ainsi, les leucocytes ne sont pas comprimés, ni gênés dans leurs évolutions.

La préparation bordée à la paraffine est posée sur la platine du microscope muni d'un condensateur Abbe très diaphragmé. Ce microscope a été placé dans une étuve dont nous avons réglé la température. L'éclairage est obtenu par une lampe à incandescence.

L'image de la plage choisie de la préparation est mise au point sur le film

de l'appareil cinématographique. Un mécanisme automatique permet de prendre les vues à intervalles de temps égaux.

Pour étudier le film obtenu, il sera projeté à la vitesse normale de 16 images par seconde. Quand, par exemple, nous avons pris une photographie toutes les cinq secondes, la vitesse du leucocyte sur l'écran sera de  $5 \times 16$ , soit 80 fois la vitesse réelle de l'élément reproduit.

Pour mesurer la vitesse de progression d'un leucocyte, nous

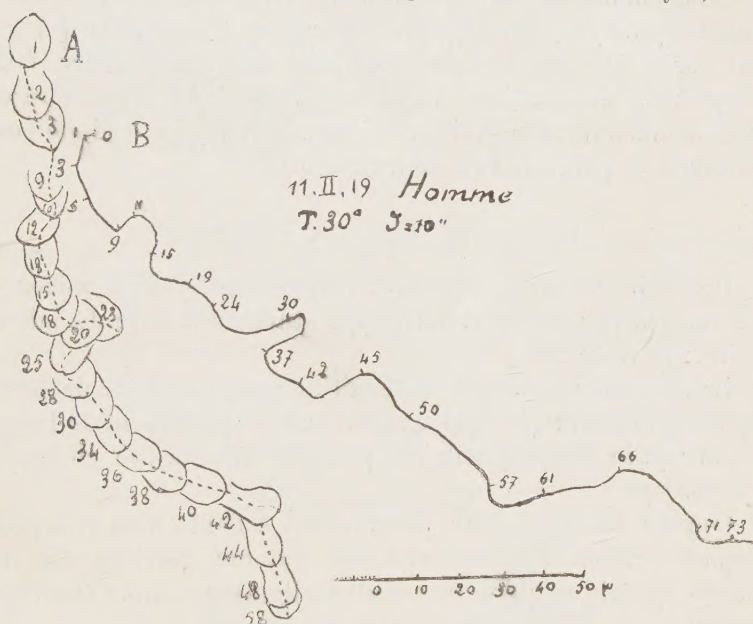


FIG. 1.

utilisons une échelle au 1/100 de millimètre que nous photographions dans les mêmes conditions que le sang étudié.

Sur une feuille de papier mise à la place de l'écran, nous projetons l'image de l'échelle, puis successivement chacune des images du film, en prenant, chaque fois, un calque du leucocyte considéré (fig. 1, 2, 3, 4, 8). Sachant l'intervalle de *temps* entre chaque image, et l'espace parcouru, mesuré à l'échelle, il nous est facile de construire une courbe; la pente de la tangente à cette courbe représente la vitesse à un moment donné (fig. 7).

Nous voudrions consigner ici des observations que nous avons pu faire, en étudiant, de cette façon, les leucocytes de quelques vertébrés.

Nous confirmons, en général, les descriptions classiques; nous croyons cependant pouvoir faire remarquer quelques détails nouveaux qu'il était bien difficile de voir par l'examen direct et sans modifier la vitesse, très lente, de ces cellules.

Nous choisirons dans nos films les leucocytes les plus nettement reproduits, sans nous occuper de la place exacte qui leur est assignée dans les classifications des anatomistes (faites d'après les préparations fixées et colorées). Les films sont des documents durables, et il serait assez facile, plus tard, de compléter, à ce point de vue, notre travail.

#### LEUCOCYTES GRANULEUX DE POISSON.

Il s'agit de sang de carpe, cinéphotographié à raison de 14 images par seconde. La température était celle du laboratoire : environ 30°.

Le sang de cet animal contenait un grand nombre de leucocytes granuleux (1) qui avaient un déplacement tellement rapide qu'ils traversaient, en quelques minutes, le champ du microscope.

Comme *Amœba Limax*, ils avancent à l'aide d'un gros pseudopode arrondi à l'extrémité, ils traînent derrière eux une masse sphérique qu'on reconnaît facilement comme étant leur noyau.

#### LEUCOCYTES DE CRAPAUD.

Chez *Bufo*, il existe, à côté de petits leucocytes granuleux, de grands mononucléaires de 30  $\mu$  de diamètre environ. Ils sont très étalés sur le verre; les grands pseudopodes, très aplatis, naissent à n'importe quel point de la périphérie, ce qui leur donne une forme extrêmement irrégulière, « en jeu de patience ».

(1) Les carpes que nous possédions étaient parasitées par quelques trypanosomes, ceci est peut-être la cause du grand nombre de leucocytes granuleux qui, d'après Mesnil [30], seraient très rares, en règle générale, chez les Téléostéens.



Dans les films où, par suite d'un tactisme provoqué, ces leucocytes se meuvent en ligne droite, on remarque qu'ils sont élargis dans le sens perpendiculaire à la marche. Le noyau

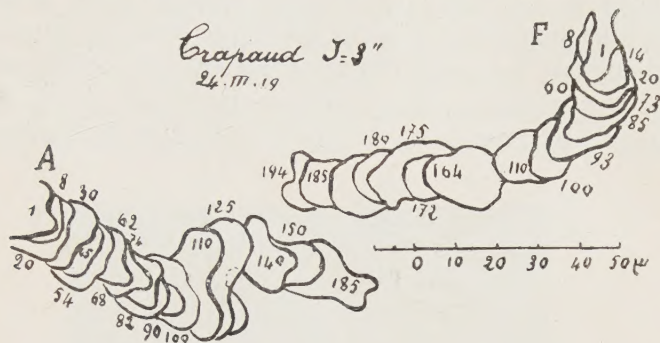


FIG. 2.

forme une masse postérieure, les pseudopodes se produisent presque exclusivement sur le front qui avance (fig. 3).

#### LEUCOCYTES DE GRENOUILLE (*Rana esculenta* et *fusca*).

Nous voyons ici peu de ces grands mononucléaires très étalés sur la lame à la façon de *Amœba proteus* ou *diffluens*, que nous

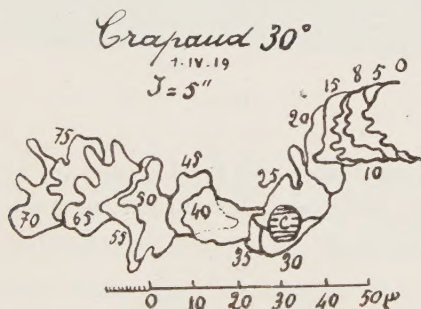


FIG. 3.

remarquions chez le Crapaud. Nous observons, par contre, un grand nombre de petits leucocytes de  $8\mu$  de diamètre en moyenne. Le plus souvent, ces leucocytes avancent à l'aide d'un gros pseudopode large et arrondi, subsistant peu de temps au même point, pour reparaitre en un point voisin; d'où,

dans sa progression, un balancement rythmique de l'élément, dont nous reparlerons au sujet des leucocytes humains. Par moment, ce leucocyte s'étale beaucoup plus, donnant alors naissance à de nombreux pseudopodes hyalins; enfin, d'autres fois, et brusquement, il devient sphérique pour quelques instants et aussitôt les granulations qui étaient peu visibles apparaissent avec netteté; elles semblent naître sur place. Nous pensons que cet aspect est dû à une modification de l'indice de

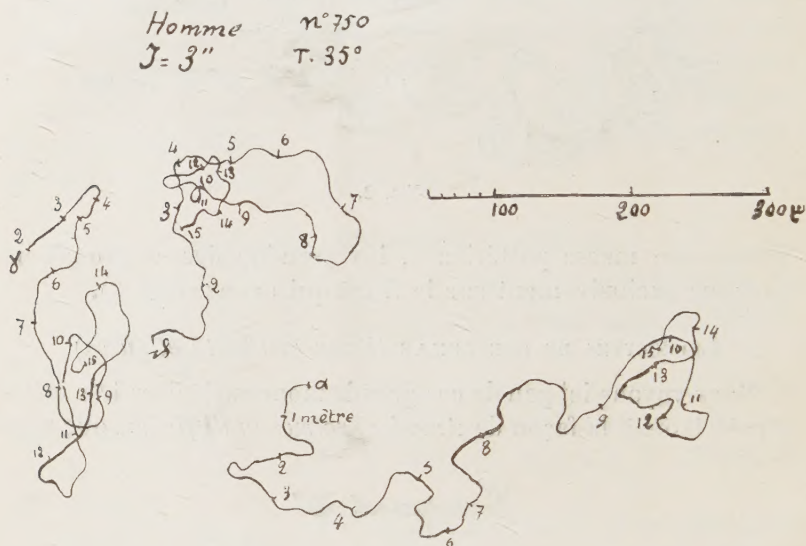


FIG. 4.

réfraction du protoplasme qui les baigne; les changements de forme et d'allure indiquent des variations relativement considérables et brusques de la tension superficielle.

#### LEUCOCYTES HUMAINS.

Dans les préparations du sang vivant, examinées par transparence, il est difficile de distinguer les leucocytes non granuleux. Nous n'étudierons ici que les globules blancs granuleux à noyau polylobé.

Quand on observe une préparation venant d'être faite, les leucocytes sont immobiles, d'aspect sphérique. Ce n'est pas là une forme de repos, ces éléments sont rétractés au maximum,



comme le cœur en systole ou le muscle en tétanisation. L'amibe a d'ailleurs un aspect analogue sous l'action d'une excitation violente, ainsi que Engelmann [47] l'a décrit.

Après un temps variable selon la température, le leucocyte s'étale sur la lame; les granulations glissent de chaque côté du noyau; des pseudopodes s'allongent. Enfin, un prolongement plus volumineux entraîne le globule blanc qui rampe, à la façon d'*Amœba Limax*. Dans un de nos films, nous voyons que ce

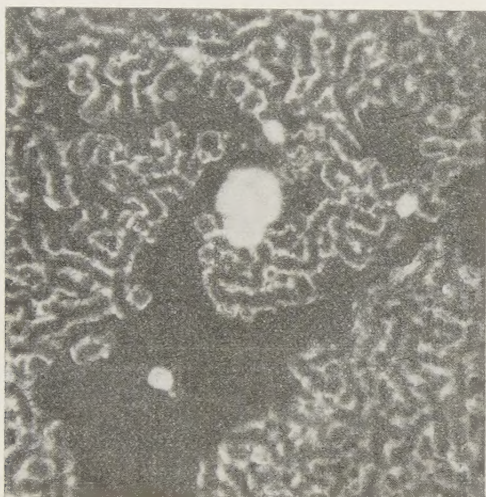


FIG. 5.

pseudopode peut être très long, de plus de 30  $\mu$ . On remarque que ce pseudopode se rétracte bientôt; il s'en forme aussitôt un autre, en un point contigu, qui se rétracte à son tour. Le leucocyte avance donc, dans une direction déterminée, par un balancement caractéristique. Nous retrouvons ici, dans le protoplasme de la cellule amiboïde, un certain rythme qui est à rapprocher de celui que nous avons montré avec Pinoy (en 1912) dans les mouvements des *Myxomycètes*.

Dans une préparation normale, sans addition d'aucune substance étrangère, les leucocytes, soumis sans doute à une infinité de légers tactismes, semblent errer à l'aventure; ils font des crochets à angle droit, comme ces mouches qui, au début de l'été, voltigent au centre des pièces d'habitation, sous les appa-

reils d'éclairage. *Ces crochets sont d'autant plus fréquents, le trajet plus irrégulier, que le leucocyte va moins vite ou qu'il est plus altéré* (fig. 4).

Quand les leucocytes se déplacent avec rapidité, on remarque une petite masse protoplasmique qu'ils traînent derrière eux et qui se détache avec peine de la lame de verre à laquelle elle adhère. Ce prolongement prend l'aspect d'une *petite queue* (fig. 5). Elle n'est parfois rattachée au globule que par un



FIG. 6. — Au centre, grain d'amidon entouré par un leucocyte.  
Remarquer la vacuole du leucocyte.

isthme très étroit, que cependant nous n'avons vu se rompre que très exceptionnellement.

Il est aussi une particularité que nos projections cinématographiques nous ont permis d'observer dans de nombreux leucocytes de vertébrés, en particulier dans des polynucléaires humains. Il apparaît, au sein du protoplasme, une *vacuole*, d'abord de la grosseur d'une granulation, elle augmente peu à peu de volume, elle peut atteindre  $4\ \mu$  de diamètre, puis, brusquement, elle se vide à l'extérieur, ainsi que la vacuole contractile de l'Amibe. Ces petites vacuoles ont été vues par de nombreux observateurs : Ravier donne le dessin de l'une d'elles (37, fig. 42), mais jusqu'ici on n'a pas indiqué qu'elles

se vidaient à l'extérieur, ainsi que les vésicules des Protozoaires (fig. 6).

## B. — *Vitesse de progression des leucocytes.*

### ACTION DE LA TEMPÉRATURE.

On sait déjà que les leucocytes sont presque immobiles au-dessous de 10°, et que leurs mouvements sont de plus en plus vifs quand la température s'élève jusqu'à un maximum qui est la température du corps des homéothermes. Jolly a publié un intéressant travail sur ce sujet [22].

En exposant la technique, nous avons indiqué que notre préparation de sang était placée dans une étuve dont nous déterminions la température. Nous avons dit aussi comment à l'aide de nos films nous construisons des graphiques de la progression des leucocytes. Ces diagrammes nous montrent des variations de vitesse considérables, si on considère le globule blanc pendant des temps relativement courts (fig. 7).

La projection cinématographique nous fait d'ailleurs percevoir ces variations. Elles sont dues, en partie, aux obstacles variables rencontrés sur le chemin. A chaque instant, le leucocyte subit une adhérence plus ou moins grande à son support, ce qui règle son étalement. Certaines particules produisent un tactisme qui explique la situation et la forme des pseudopodes. Parfois, le leucocyte, pendant une fraction de minute, n'a aucun déplacement; d'après la courbe sa vitesse serait nulle : son protoplasme n'en a pas moins un mouvement interne très vif. A un autre moment, nous voyons le globule s'allonger considérablement, puis, prenant point d'appui sur son extrémité, il détache sa partie postérieure qui brusquement est attirée en avant; il avance alors, à la manière de la chenille arpeuteuse, et notre courbe indique un déplacement alternativement lent puis très rapide.

Mais dans de nombreux cas, cette cellule rampe presque sans déformation, comme une Limace ou une Planaire.

Nous constatons aussi que les hématies normales, en piles ou même en amas considérables, constituent un obstacle insignifiant à la progression de la cellule amiboïde, elles ne produisent aucun *thigmotactisme*; de même, les buissons de fibrine sont, en général, traversés sans que la vitesse soit sensiblement ralentie.

Si, par contre, on considère la *vitesse moyenne* d'un leucocyte, ou mieux de plusieurs leucocytes pendant un temps relativement long, on voit que celle-ci est assez constante quand les conditions sont les mêmes.

La chaleur agit de la même façon sur les leucocytes des



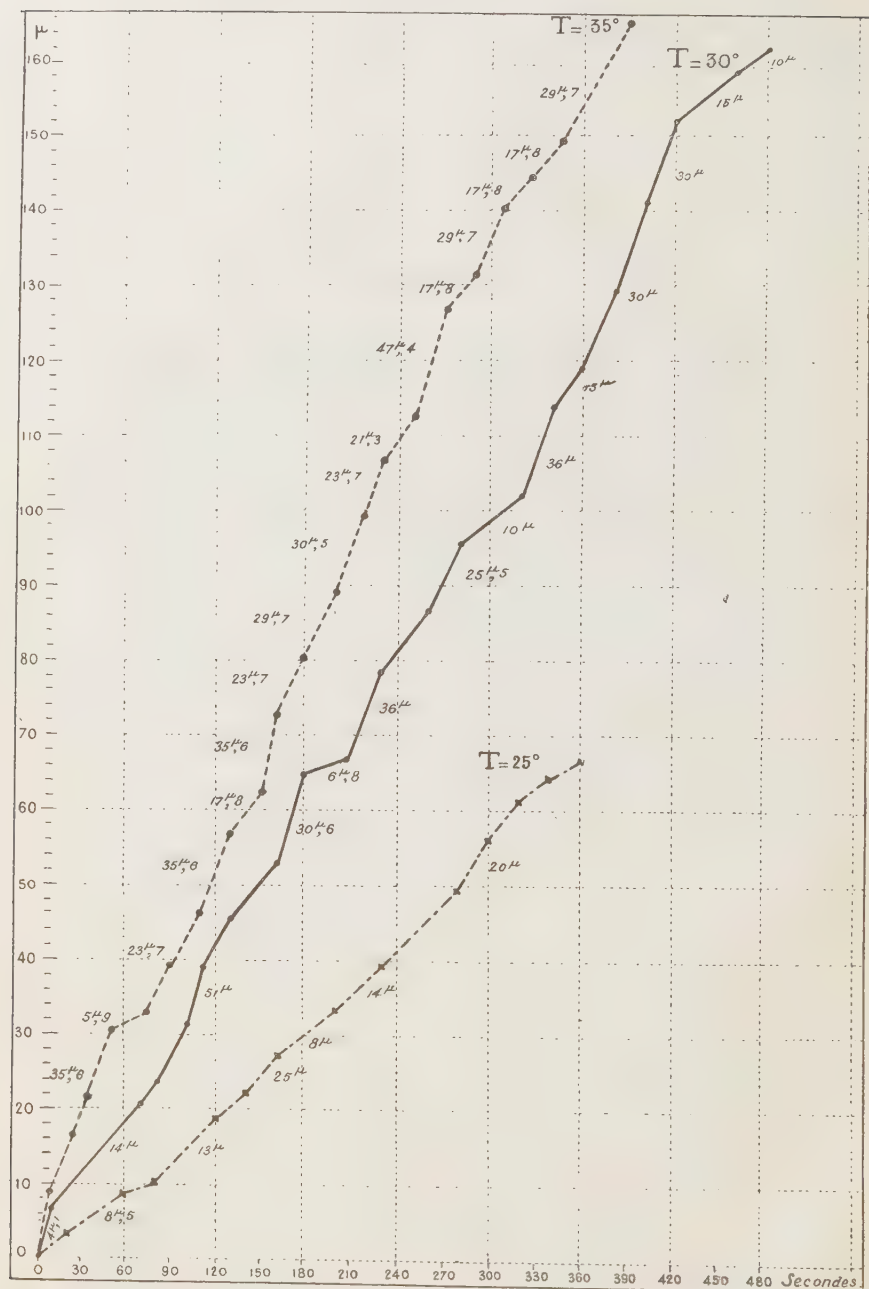


FIG. 7. — Variations de vitesse de leucocytes humains, suivant la température. Les chiffres inscrits près de la courbe indiquent la vitesse du leucocyte, au moment correspondant.

animaux à sang froid et sur ceux des animaux à sang chaud; cependant, ainsi que l'a indiqué Jolly [22] la température, donnant le maximum de vitesse, semble moins élevée (vers 35°) chez les poïcilothermes que chez les homéothermes (38 à 40°). Chez ces derniers, à 13°, les globules blancs sont à peu près sphériques et immobiles.

Pour le sang humain, le maximum de vitesse semble être vers 38°. Au-dessus de cette température, il est d'ailleurs difficile de conserver les leucocytes, pendant un temps assez long, dans des conditions normales; car, en quelques minutes, les globules blancs ont des signes de souffrance, les mouvements se ralentissent, la cellule se met en boule et s'immobilise. Dans ces préparations les hématies ont aussi des signes d'altération, elles deviennent crénelées, les piles se désagrègent, malgré les précautions prises pour éviter l'évaporation. D'après le tableau ci-dessous nous voyons que la vitesse *maxima* enregistrée est environ le double de la vitesse *moyenne* du leucocyte.

	27°		28°		30°		33°	
	Vitesse moyenne	Vitesse maximum	Vitesse moyenne	Vitesse maximum	Vitesse moyenne	Vitesse maximum	Vitesse moyenne	Vitesse maximum
Leucocyte humain	11 *	20	"	"	20,6	51	24,5	51,5
	10,7	20	"	"	20,25	51	24,8	41,5
	8,4	20	"	"	"	"	26,3	47,5
	8,4	24	"	"	"	"	"	"
Moyenne . . .	9,6	21			20,4	51	25,2	46,8
Leucocyte	{	"	9,7	17	17	41		
de crapaud . . . .			"	"	11	17,2	"	"

\*  $\mu$  par minute.

Nos chiffres sont généralement plus élevés que ceux que, donne Jolly [22]. Cela provient sans doute de la différence de technique.

D'après ces quelques données, nous pouvons constater que lorsque la température augmente de 10°, la vitesse de reptation

est, en général, multipliée par un facteur compris entre deux et trois. Cette augmentation de vitesse suit donc une règle analogue à la loi de Van't Hoff-Arrhenius pour les vitesses des réactions bimoléculaires, loi qui régit beaucoup de réactions produites par des ferments catalytiques. Madsen, Wulff et Watabiki [27] ont montré que la marche de la phagocytose pouvait être exprimée par cette même loi. Ne serait-ce pas parce que cette phagocytose est directement proportionnelle à la vitesse de reptation des globules blancs? Les expériences dont nous allons nous occuper nous montrent bien, en effet, que l'enrobage du charbon et de l'amidon est d'autant plus rapide, que la vitesse du leucocyte est plus considérable, que la température se rapproche davantage de 37°.

Ceci nous amène à dire un mot de la survie des leucocytes dans les conditions où nous avons opéré : *in vitro*, entre lame et lamelle bordée à la paraffine.

Dans des préparations de sang humain, conservées à 10° environ, nous avons trouvé des leucocytes mobiles après dix jours, quand on les examinait à 25°. Par contre, à 38°, les leucocytes ralentissent leurs mouvements après quelques minutes; bientôt ils s'immobilisent et meurent.

A 25° la survie est d'environ vingt-quatre heures, mais après quelques heures les mouvements de reptation ont déjà beaucoup diminué.

Cet arrêt des leucocytes semble provenir d'une altération générale du sang, qui, *in vitro*, se ferait beaucoup plus rapidement quand la température s'élève.

On peut supposer la formation de produits d'autolyse toxiques pour les globules blancs.

On peut aussi admettre que les cellules amiboïdes utilisent, pour se mouvoir, des substances qui se trouveraient en quantité limitée dans leur protoplasme ou dans le peu de sérum qui est à leur disposition, ces substances seraient d'autant plus vite épuisées que les manifestations vitales, en particulier les mouvements actifs, sont plus intenses.

Une de ces substances est sans doute l'oxygène (comme l'indiquent les expériences de Ranvier [37] et aussi celles de Hamburger [49]), et un des produits toxiques peut être CO<sup>2</sup>.

Cependant Bohn et Drzewina [16] ont indiqué qu'on augmente la survie, en aquarium, des spermatozoïdes d'Oursin et des animaux aquatiques, en diminuant les oxydations. Cohn [7] a aussi montré que les spermatozoïdes d'Oursin Arbacia ont également une survie d'autant plus longue que ces cellules sont moins actives; cette *activité est en raison directe de la température* et en raison inverse de la richesse du milieu en ions H. Les spermatozoïdes (comme peut-être aussi nos globules blancs) auraient une quantité limitée d'énergie à dépenser (mesurée par CO<sup>2</sup> qu'ils peuvent dégager). La chaleur et l'ion OH produiraient un effet catalytique, en augmentant la vitesse de réaction, la décharge de cette énergie.

Nous venons de constater l'action de la chaleur sur les leuco-



cytes, nous n'avons pas parlé du *thermotactisme*, dont l'étude nécessite un outillage très délicat, que nous n'avons pas encore mis au point. Mentionnons, à ce sujet, les travaux de Mendelssohn [29] qui indiquent comme optimum thermotactique 39°.

Au-dessous de 18°, il n'y aurait pas d'effet thermotactique. Au-dessous de 40° cet auteur n'ose affirmer un léger thermotactisme négatif.

#### ACTION DE LA LUMIÈRE.

Nous croyons intéressant de donner ici quelques faits révélés par nos expériences, où la lumière joue un rôle important, puisqu'il s'agit de photographies.

Quand nous éclairons une préparation de sang humain, à l'aide d'un con-

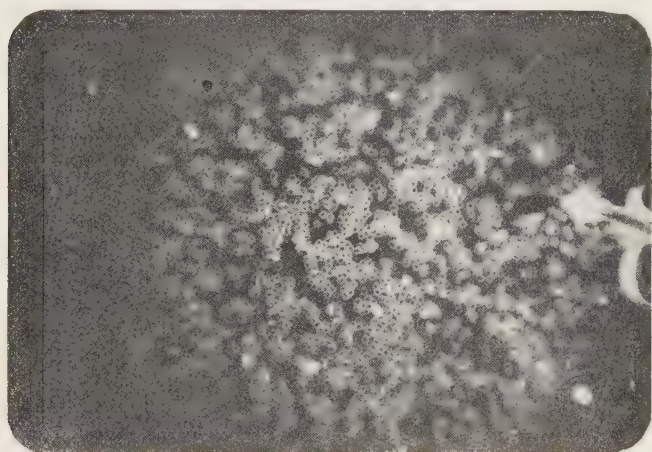


Fig. 8.

densateur sur champ noir (condensateur parabolique de Zeiss), les rayons lumineux sont réunis à la partie centrale du champ observé, la périphérie est d'autant moins éclairée qu'elle est plus éloignée. En examinant ou photographiant cette préparation, à l'aide d'un faible grossissement (60 diamètres), on voit la plage centrale très lumineuse et la périphérie dans l'obscurité presque complète. Les leucocytes sont faciles à distinguer, grâce à la grande réfringence de leurs granulations.

Dans un film représentant une telle préparation (fig. 8), on voit que les leucocytes qui sont au centre ont bientôt des mouvements plus lents, ils font des circuits à rayons de plus en plus courts; si quelques-uns d'entre eux sortent de la plage brillante ils sont sauvés, mais la plupart restent sur place, se mettent en boule et meurent en quelques minutes.

Nous n'observons pas ici de phototactisme, il est difficile d'ailleurs de

séparer l'action nocive de la lumière de celle de la chaleur produite par la source éclairante. Cependant, dans l'expérience suivante, nous avons peut-être un *phototactisme négatif qui interfère avec un chimiotactisme positif*.

Nous avons cinématographié une préparation de sang humain, ayant un grain d'amidon au centre de la plage très lumineuse produite par le condenseur sur fond noir. L'amidon apparaît extrêmement brillant; il réfléchit l'éclairage intense de l'arc électrique, il agit donc lui-même comme source lumineuse. Le chimiotactisme positif, produit par l'amidon, dirige les leucocytes en grand nombre vers l'amidon central; mais, contrairement à ce qui se passe, en général, pour les grains peu éclairés, dès que les cellules amiboïdes touchent le grain brillant, ou quand elles s'en approchent, elles font un demi-tour et s'éloignent du centre. Le phototactisme négatif agit alors, surpassant le chimiotactisme positif.

*Une lumière intense empêche donc la phagocytose normale; c'est pourquoi nous ne nous servons pas de l'ultra-microscope pour l'obtention des films devant servir à l'étude de cet intéressant phénomène.*

### *Action des radiations ultra-violettes.*

Nous avons éclairé des préparations de sang par des rayons ultra-violets purs ( $\lambda = 175 \mu\mu$ ) pris dans le spectre de l'étincelle, entre deux électrodes de cadmium (toute l'optique étant en quartz, et la mise au point du microscope étant faite sur un écran fluorescent).

Sous l'action de ces radiations, les leucocytes sont presque immédiatement détruits; les hématies sont d'ailleurs hémolysées en quelques secondes, par l'effet abiotique de ces rayons.

## II. — Tactisme des phagocytes provoqué par l'amidon et par le charbon.

Dans ces dernières années, de nombreuses recherches ont été faites sur la *phagocytose, in vitro*.

Depuis les beaux travaux de Wright, la plupart des auteurs ont étudié le pouvoir d'enrobage par les leucocytes des microbes ou des cellules vivantes, et la variation de ce pouvoir, selon les propriétés biologiques de la cellule phagocytable (recherche de l'*index opsonique*).

Hamburger [48] et ses élèves ont étudié, *in vitro*, la phagocytose du charbon, puis des grains d'amidon de riz, par les globules blancs de cheval. Ils ont montré comment cette phagocytose pouvait être modifiée par un grand nombre de corps chimiques, et qu'elle était favorisée, en particulier, par les ions Ca et par de petites quantités de substances solubles dans les lipoides (iodoforme, alcool, camphre, etc.).

Ces méthodes sont statistiques, elles n'indiquent pas com-

ment s'effectue cette phagocytose qu'elles permettent de constater.

Levaditi et Mutermilch [26], par des examens directs au microscope, ont montré que le premier temps de l'acte phagocytaire était le phénomène physique de l'attachement; avec ces auteurs, nous avons cinéphotographié cet accollement [43]. Plusieurs biologistes [3, 24] ont confirmé ces observations; certains ont même émis l'opinion que le contact du leucocyte et du microbe n'était souvent dû qu'au hasard des mouvements des microbes, ou de l'agitation du liquide contenant en suspension les leucocytes.

Dans toutes ces expériences, on ne recherche pas l'influence propre du tactisme, de l'attraction à distance du leucocyte par le corps devant être enrobé.

Cependant Metchnikoff avait indiqué que l'abondance des leucocytes, dans le pus des abcès, doit provenir d'un chimiotactisme positif, produit par les microbes ou les substances étrangères introduits dans l'organisme. Massart [28] a, le premier, fait l'étude de ce tactisme et divers auteurs après lui se sont servis de son ingénieuse technique.

Celle-ci consiste à mettre la substance à étudier dans des tubes capillaires fermés à une extrémité. On introduit ces tubes sous la peau d'un animal vivant. Les phagocytes dirigés par le chimiotactisme pénètrent dans le tube; après un séjour plus ou moins prolongé dans l'organisme animal, le tube est retiré. La mesure de la hauteur de la colonne, formée dans le tube, par les leucocytes, donne une évaluation de la puissance chimiotactique du microbe ou de la substance introduite.

Par le procédé de Massart, des auteurs, comme Bordet [6], Hamburger [48], ont étudié les modifications qu'on peut faire subir à la phagocytose, en agissant soit sur le phagocyte soit sur le corps phagocytable. Ce procédé fut aussi appliqué par des biologistes pour l'étude des chimiotactismes de divers protistes [36, 4].

Par cette méthode, on n'a que le résultat final, en bloc, produit par le tactisme. Il en est de même du procédé décrit dernièrement par Wright [40] qui, dans des tubes capillaires aplatis, met en présence des leucocytes et des colonies microbiennes. Après quelque temps d'étuve, à 37°, il colore le contenu du tube et voit le résultat du tactisme au microscope.



Notre intention est, par contre, de *montrer directement* comment se comporte un phagocyte, quand il est en présence d'un corps étranger, dans une préparation de sang vivant.

Nous avons déjà exposé devant la Société de Biologie [12] l'effet du tactisme produit, *in vitro*, sur les globules blancs d'un oiseau (*Padda Orizzivora*), par un Hématozoaire : *Hemamoeba Danilewskii*. Nous avons observé un tactisme analogue dans le sang humain impaludé, et aussi vis-à-vis de *Microfilaria loa*.

Pour les expériences relatées ici, nous avons choisi les grains d'amidon de pomme de terre, puis la poudre de charbon de bois lavée (1). Il nous fallait, en effet, introduire entre lame et lamelle, au sein de la préparation de sang, des substances facilement reconnaissables. Ces corps étrangers ne doivent pas être en grande quantité, de façon à ne produire le tactisme qu'en un nombre de points limité, et leur volume doit être assez petit pour que la préparation soit suffisamment mince pour l'examen microscopique.

Voici notre façon d'opérer :

La poudre de charbon ou les grains d'amidon (1) sont mis en suspension dans de l'eau distillée. En filtrant sur du coton, nous éliminons les plus grosses particules.

Le filtrat est recueilli dans un tube à essai. En laissant au repos cette suspension, les plus gros grains tombent rapidement au fond du tube, les grains très fins flottent, par contre, beaucoup plus longtemps, grâce à leur surface considérable par rapport à leur masse. Bientôt la partie supérieure du tube s'éclaircit. En prenant à différents niveaux, à l'aide d'une pipette, nous pouvons obtenir, à volonté, toute une gamme de grosseur de grains.

Sur une lame très propre, on dépose une goutte de cette suspension. On laisse ensuite sécher à l'abri de la poussière.

C'est sur cette même plage de la lame que nous déposons une goutte de sang, et on achève la préparation en posant une lamelle et en bordant à la paraffine. Les films obtenus sont étudiés d'après la projection cinématographique ou bien image par image.

#### A. — *Tactisme produit par l'amidon.*

Le phénomène observé ressemble à ce que nous avons enregistré au sujet de la phagocytose de l'hémamibe du Padda [12].

(1) C'est seulement après que nos films ont été obtenus que nous avons eu connaissance des beaux travaux de Hamburger et de ses élèves [18], qui, pour des raisons à peu près analogues aux nôtres, ont choisi comme objets phagocytibles le charbon et l'amidon. Mais notre technique est absolument différente de la leur.

Nous avons fait des expériences avec du sang de *Crapaud*, de *Grenouille* et du sang *humain*. Dans tous les cas où la température est suffisante, le chimiotactisme est intense; les leucocytes traversent le champ photographié pour se diriger vers le grain d'amidon. Leur trajet, qui, dans les préparations normales, est extrêmement irrégulier (fig. 4.) est ici presque rectiligne (fig. 9). Ils franchissent tous les obstacles (buissons de fibrine, amas de globules rouges), en ralentissant à peine leur vitesse. Celle-ci est

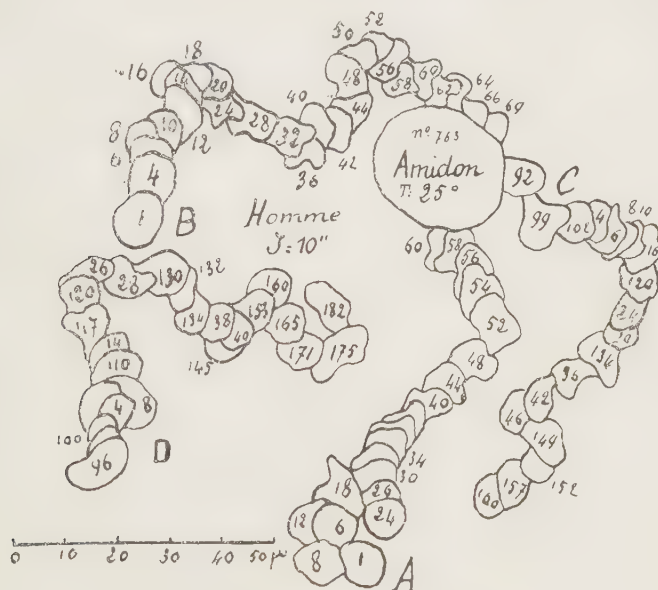


FIG. 9.

déterminée par la température, elle ne subit pas d'accélération par l'effet de l'amidon. Aussitôt cet amidon atteint, le leucocyte s'étale sur lui d'une façon remarquable; l'épaisseur du protoplasme recouvrant un gros grain d'amidon peut être évalué à moins de 4  $\mu$ .

Fréquemment le grain d'amidon est légèrement écrasé par la lamelle, d'où formation de petites fissures radiaires. Les globules blancs entrent dans ces fissures et parviennent à débiter mécaniquement l'amidon, en blocs cubiques, qui sont complètement enrobés par la cellule amiboïde (fig. 6). Les grains de petites dimensions (10  $\mu$ ) sont totalement enveloppés par le pro-

toplasme. Nous avons vu, dans la phagocytose de l'Hémamibe du Padda, que le leucocyte pousse devant lui l'hématie parasitée, jusqu'à ce que se produise son éclatement. Le thigmotactisme, l'étalement et l'adhérence du leucocyte n'a pas lieu sur le globule rouge, mais seulement sur le parasite expulsé et éclaté à son tour. Ici, par contre, les petits grains d'amidon sont immédiatement enrobés, et le leucocyte, le plus souvent, ne suspend même pas ses mouvements; *il traîne son amidon et le transporte vers d'autres grains plus gros* qui continuent à exercer un tactisme intense. Nous montrons, dans un de nos films, un polynucléaire humain transportant, à grand'peine, un grain d'amidon de  $15\mu$  de diamètre vers un autre grain plus gros situé à plus de  $60\mu$  de distance.

Les gros grains d'amidon sont donc bientôt entourés d'un grand nombre de leucocytes, soit libres, soit chargés eux-mêmes d'amidon. Nous voyons ainsi des amas, disséminés dans la préparation, qui sont de *véritables petits abcès dont nous assistons à la formation, in vitro*.

Quand l'amidon est complètement enrobé par un leucocyte, il semble ne plus exercer de tactisme sur les autres globules blancs.

Cet amidon est-il digéré par la cellule phagocytaire? Nos préparations ne nous permettent pas de l'affirmer. Cependant, nous pouvons remarquer qu'après un certain temps, variable avec la température, les hématies situées autour des amas phagocytés prennent l'aspect crénelé. Dans les autres points de la préparation, elles sont intactes et disposées en piles de monnaies. Cette modification indique une augmentation de la pression osmotique du sérum, et celle-ci nous paraît due aux *produits de la digestion de l'amidon* : glucose ou acide lactique.

Après une dizaine d'heures, à  $28^{\circ}$ , les *altérations* des hématies s'étendent à toute la préparation. Alors le *tactisme de l'amidon diminue beaucoup*, des globules blancs passent à côté des grains d'amidon sans être attirés, et bientôt les amas, ces abcès *in vitro*, se désagrègent, les leucocytes, un à un, s'en détachent, emportant chacun son grain ou son fragment d'amidon. Enfin, les cellules amiboïdes ne tardent pas à montrer des signes de souffrance et leurs mouvements s'arrêtent (1).

(1) Besredka [5] a montré que les leucocytes intoxiqués par le trisulfure d'As cessent de phagocyter ce corps *in vitro*.



Elles conservent cependant la propriété d'*adhérer* à l'amidon, ce phénomène *capillaire qu'on a appelé thigmotactisme subsiste, même après la mort*, comme Levaditi et Mutermilch [26], puis Kite et Wherry [23], Ledingham [24 et 25], Barikine [3] l'ont montré pour l'attachement des microorganismes aux leucocytes.

#### B. — *Enrobage du charbon.*

On sait que les globules blancs incorporent les grains de charbon qu'on met en leur présence *in vivo* ou *in vitro*. Nous étions amenés naturellement à étudier ce phénomène par notre procédé.

Les grains de charbon de bois lavés, que nous introduisons dans la préparation de sang, ont la forme de plaquettes dont le diamètre varie de 2 à 30  $\mu$ . En y ajoutant de l'amidon, nous pouvons étudier la différence de comportement des leucocytes vis-à-vis de ces deux corps.

Nous pouvons dire, en peu de mots, ce que l'examen des films obtenus nous permet de constater.

Quand un leucocyte rencontre un grain de charbon, il s'étale à sa surface (thigmotactisme) (1). Si le grain est de petite dimension, il l'enrobe complètement et le traîne avec lui dans la préparation, comme nous l'avons vu pour les petits grains d'amidon. Mais le tactisme, l'*attraction à distance* est ici extrêmement faible, si même il existe.

Tandis que les leucocytes viennent de tous les points du champ, et en droite ligne, vers l'amidon, par contre, leur route n'est pas modifiée par la présence du charbon. Si, dans la préparation, il se trouve à la fois de l'amidon et du charbon, on voit bien cette différence d'action des deux corps.

Les leucocytes traînent le charbon qu'ils ont rencontré et vont se grouper autour des gros grains d'amidon. La figure rappelle alors ce que les anatomo-pathologistes ont constaté dans les pneumokonioses : l'accumulation des poussières de charbon dans les organes riches en leucocytes, comme les

(1) Nous considérons que le phénomène d'adhérence est improprement nommé *thigmotactisme*, c'est un phénomène physique de capillarité, analogue à l'étalement d'une goutte d'eau sur une lame de verre propre.

ganglions lymphatiques et la périphérie des vieux tubercules.

Ce transport des corps étrangers a certainement une grande importance dans l'absorption et l'élimination des poisons ou des médicaments. Besredka l'a montré pour les sels d'arsenic [5] et d'autres auteurs, dont les travaux sont résumés par Arnozan et J. Carles [2], pour de nombreux corps.

Ces films permettent de mieux comprendre le fait, si souvent invoqué en pathologie, de l'ensemencement à distance des microbes ou des cellules cancéreuses que les leucocytes entraînent, sans les détruire, dans les différents points de l'organisme. Les globules blancs peuvent, en effet, abandonner les corps étrangers qu'ils ont enrobés.

Le tactisme pour l'amidon ou les microbes est un chimiotactisme; ces corps émettent donc, dans le sang, des substances chimiques produisant des modifications de la tension superficielle à la surface des globules blancs. Le charbon ne produirait qu'extrêmement peu de ces substances.

L'opsonine de Wright, qu'on identifie aujourd'hui à la sensibilisatrice renforcée par l'alexine, rendrait le microbe, ou en général l'antigène, apte à être phagocyté, et cette phagocytose s'opérerait en deux temps (Levaditi et Mutermilch [26], Barikine [3]).

1° *Attachement* du microbe sensibilisé au leucocyte;

2° *Enrobage puis digestion* du microbe.

Le premier temps, l'attachement, phénomène purement physique, a lieu même si le globule blanc est tué ou fragmenté.

Le deuxième temps est un phénomène actif, dépendant de la vie du leucocyte.

Ces deux temps exigent ou sont au moins très favorisés par la sensibilisatrice et le complément.

Ces substances n'agiraient pas seulement sur l'antigène, mais aussi sur le phagocyte dont elles favoriseraient les mouvements pseudopodiques (Barikine [3]); elles permettent l'attraction moléculaire de la couche superficielle du leucocyte par celle de l'antigène.

Nos expériences indiquent qu'il faut ajouter un *troisième*

*temps* au mécanisme de la phagocytose, temps primordial, constitué par l'attraction à *distance* du leucocyte par l'antigène et dont les biologistes n'ont guère jusqu'ici abordé l'étude.

Par quelle substance est produit ce chimiotactisme?

Nous ne le savons pas, pas plus d'ailleurs que nous ne connaissons la nature exacte des anticorps en général; mais, de même qu'il a été commode de désigner ces anticorps par des noms, tels que sensibilisatrice, complément, agglutinine, etc., nous pensons qu'on pourrait appeler *tropine* (1) cet autre anticorps.

Cette *tropine* diffuserait donc de l'anticorps dans le milieu ambiant. Il est à remarquer qu'elle est arrêtée ici par la substance du leucocyte, car lorsqu'un grain d'amidon est *complètement* enrobé par un leucocyte, cet amidon ne semble pas produire d'attraction sur les autres phagocytes, par contre, dans la phagocytose, *in vitro*, de l'Hémamibe du Padda [12], il est nécessaire que la substance chimiotropique, la *tropine*, traverse la membrane de l'hématie parasitée.

*En résumé :*

1° L'inscription cinématographique permet de faciliter l'étude des mouvements des leucocytes, soit par la projection animée qui nous donne le moyen d'accélérer la vitesse, soit en comparant entre elles les photographies successives et en notant exactement les changements de forme et de situation des globules blancs.

2° Ces films nous montrent des différences considérables dans la forme des pseudopodes, et la façon de ramper des leucocytes, selon les espèces animales d'où ils proviennent.

Nous avons noté, dans les globules blancs, la formation de *vacuoles* qui vidaient brusquement leur contenu à l'extérieur.

3° Les graphiques, dessinés d'après les films, montrent l'accélération de la vitesse de reptation, par la chaleur. Cette vitesse est multipliée par deux ou même trois quand la température augmente de 10° (entre 10° et 38° intervalle physiologique).

(1) Le mot *tropine* a été employé par Neufeld [34, 35] et ses collaborateurs, pour désigner une substance qui, unie à l'alexine, donnerait l'opsonine, mais Sawtschenko, Barikine et Maikoff ont montré d'après Barikine [3] que la *tropine* de Neufeld n'était autre que la sensibilisatrice de Bordet.

4° L'amidon provoque un tactisme intense sur les leucocytes qui se dirigent, en droite ligne, et en grand nombre, vers les grains de cette substance.

Les gros grains peuvent être débités en cubes, les petits grains sont complètement enrobés, puis transportés par les phagocytes vers les gros grains. Formation d'abcès *in vitro*.

5° Les grains de charbon ne semblent pas provoquer de chimiotactisme à distance. Leur voisinage ne fait pas dévier le trajet des leucocytes. Mais, si un leucocyte touche un grain de charbon, celui-ci s'attache, puis est enrobé par le leucocyte qui l'entraîne ensuite dans ses déplacements.

6° Quand la préparation s'altère, les leucocytes se ralentissent, le tactisme pour l'amidon disparaît, les amas déjà formés se désagrègent. Le phénomène d'attachement subsiste cependant.

7° Les leucocytes abandonnent assez facilement le charbon, mais très rarement l'amidon qu'ils ont phagocyté.

8° Nous proposons d'appeler *tropine* l'anticorps provoquant, à distance, l'attraction des leucocytes, le chimiotactisme.

#### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] ACHARD et RAMOND. — Contribution à l'étude ultra microscopique des granulations leucocytaires. *Arch. de Méd. expér. et d'anat. path.*, n° 3, Mai 1912.
- [2] ARNOZAN et J. CARLES. — Rôle des leucocytes dans l'absorption et l'élimination des médicaments. *Rapport au Congrès international de Médecine de Budapest*.
- [3] W. BARIKINE. — Sur le mécanisme de la phagocytose, *in vitro*. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. Therap.*, t. VIII, p. 72-86, 1910.
- [4] J. O. W. BARRATT. — Der Einfluss des Konzentration auf die Chemotaxie. *Zeitschr. allg. Physiol.*, t. V, p. 73-91, 1905.
- [5] BESREDKA. — Étude de l'immunité vis-à-vis des composés arsenicaux. Du rôle des leucocytes dans l'intoxication par un composé arsenical soluble. Du rôle des leucocytes dans l'immunisation contre l'acide arsénieux soluble. *Annales de l'Inst. Pasteur*, p. 19, 209, 465, 1899.
- [6] J. BORDET. — Recherches sur la phagocytose. *Annales de l'Inst. Pasteur*, t. X, p. 104-118, 1896.
- [7] E. J. COHN. — Studies in the physiology of spermatozoa. *Biol. bulletin*, p. 167, 1918.
- [8] J. COHNHEIM. — Ueber Entzündung u. Eiterung. *Virchow's Arch.*, t. XL, I, p. 79, 1867.
- [9] J. COMANDON. — De l'usage en clinique de l'ultra-microscope. *Thèse*, Paris, 1909.



- [10] — La cinématographie, son rôle dans les études biologiques. *La Presse médicale*, n° 33, p. 469-473, 1913.
- [11] — Phénomènes de biologie cellulaire étudiés à l'aide du cinématographe. *Comptes rendus de la LXIII<sup>e</sup> session de l'Association française pour l'avancement des Sciences*, Le Havre, 1914.
- [12] — Phagocytose, *in vitro*, des hématozoaires du Calfat. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, p. 314, 17 Mars 1917.
- [13] J. COMANDON, C. LEVADITI et S. MUTERMILCH. — Mécanisme de la phagocytose des trypanosomes. Démonstration cinématographique à l'Académie de Médecine, 12 juillet 1910.
- [14] — Étude de la vie et de la croissance des cellules, *in vitro*, à l'aide de l'enregistrement cinématographique. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIV, p. 464, 1913.
- [15] J. COMANDON et J. JOLLY. — Démonstration cinématographique des phénomènes nucléaires de la division cellulaire. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXV, p. 457, 1913, et *Journ. de Phys. et de Path. générale*, t. XVII, p. 573-589, 1917.
- [16] A. DRZEWINA et G. BOHN. — Effet de l'inhibition des oxydations sur les spermatozoïdes d'Oursin et, par leur intermédiaire, sur le développement. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLIV, p. 1639-1641.
- [17] ENGELMANN. — Handbuch der Physiologie, von Hermann, I, p. 359-376.
- [18] H. J. HAMBURGER (Gröningue). — Physikalisch-chemische Untersuchungen über Phagozytose, ihre Bedeutung von allgemein biologischem und pathologischem Gesichtspunkt, Wiesbaden, Bergmann, 1912.
- [19] — Researches on phagocytosis. *Brit. med. Journ.*, p. 37-41, 8 janvier 1916.
- [20] P. HEGER et E. ZUNTZ (Bruxelles). — Mesures défensives de l'organisme contre les substances étrangères dans le sang. *Rapport au Congrès international de Médecine, section thérapeutique, Londres*, 1913.
- [21] C. HOLLANDE et J. BEAUVÉRIE. — Survie et phagocytose de leucocytes en milieu urinaire et en dehors de l'organisme. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIX, p. 34, 1916.
- [22] J. JOLLY. — Sur la vitesse du mouvement de reptation des leucocytes. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIV, p. 504, 1913.
- [23] C. L. KITE et W. B. WHERRY. — The mechanism of phagocytosis. *Journ. of inf. dis.*, t. XVI, p. 109, Mars 1915.
- [24] J. C. G. LEDINGHAM. — Influence of temperature on phagocytosis. *Proc. Roy. Soc.*, ser. B, t. LXXX, p. 188-195, 1908.
- [25] — The mechanism of phagocytosis from the adsorption point of view. *Journ. of Hygiene*, t. XII, p. 320-360, 1912.
- [26] C. LEVADITI et S. MUTERMILCH. — Mécanisme de la phagocytose. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXVII, p. 1079-1081, 1910.
- [27] T. MADSEN, O. WULFF et E. WATABIKI. — Sur la vitesse de réaction de la phagocytose. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXXII, p. 109, 1919.
- [28] J. MASSART. Le chimiotactisme des leucocytes et l'immunité. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, p. 321-327, 1892.
- [29] M. MENDELSSOHN. — Recherches sur la thermotaxie des organismes unicellulaires; recherches sur l'interférence de la thermotaxie et d'autres tactismes. *Journ. de Physiol. et de Pathol. générale*, n° 3, p. 393-496, Mai 1902.
- [30] A. MESNIL. — Sur le mode de résistance des vertébrés inférieurs aux

- invasions microbiennes artificielles. *Annales de l'Institut Pasteur*, p. 301-351, 1895.
- [31] E. METCHNIKOFF. — *Virchow's Archiv*, t. XCVI, p. 177-195, 1884.
- [32] — Die natürlichen Heilkräfte des Organismus gegen Infektionskrankheiten. *Vortrag im Wissenschaftlichen Verein*, Berlin, 8 avril 1908.
- [33] — L'immunité dans les maladies infectieuses, Paris, 1901.
- [34] NEUFELD. — *Arb. a. d. Kais. Gesundh.*, t. XXVII, p. 414 et t. XXVIII, p. 12.
- [35] NEUFELD et RIMPAN. — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1904.
- [36] W. PFEFFER. — Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. *Ber. Bot. Ges.*, t. I, p. 524-533, 1883.
- [37] L. RANVIER. — *Traité technique d'histologie*. Savy, Paris, 1875.
- [38] L. RHUMBLER. — Das Protoplasma als physikalisches System. *Erg. d. Physiol.*, t. XIV, p. 474-617, 1914.
- [39] J. TAIT. — Phénomènes capillaires observés dans les cellules sanguines. *Quarterly Journ. of experim. physiol.*, t. XII-1, p. 33, 1918.
- [40] A. E. WRIGHT. — Les derniers travaux sur les plaies de guerre. *Assoc. franç. pour l'Avanc. des Sc.*, Recueil des conférences de 1917, p. 217-250.

# ÉTUDES SUR LE PNEUMOCOQUE

(NEUVIÈME MÉMOIRE)

## IMMUNITÉ ANTIPNEUMOCOCCIQUE (1)

par M<sup>lle</sup> A. RAPHIAEL.

Le Pneumocoque est un microbe peu toxique, n'agissant essentiellement que par sa virulence, c'est-à-dire par son pouvoir de se multiplier dans l'organisme. On sait qu'il est relativement aisé, étant donnée une espèce microbienne toxique, de préparer une antitoxine susceptible d'agir sur tous les échantillons de la même espèce; ces échantillons peuvent différer les uns des autres par la *quantité* de toxine qu'ils sécrètent et d'antitoxine qu'ils font naître, mais il n'y a aucune différence *qualitative*. Au contraire, les divers échantillons d'une espèce microbienne virulente présentent habituellement entre eux, quant à leurs propriétés immunisantes, des différences *qualitatives* très grandes. En ce qui concerne le pneumocoque, l'individualisation est si accusée que le principe même de la sérothérapie antipneumococcique a pu paraître un instant compromis.

Nous nous sommes donc proposé de reprendre l'étude de cette question. Quels sont les rapports qui existent entre les pneumocoques au point de vue de leur pouvoir immunisant? La sérothérapie antipneumococcique est-elle théoriquement possible? Si oui, quelles en sont les bases expérimentales? C'est ce que nous allons nous efforcer d'établir.

(1) Nos recherches relatives à l'immunité antipneumococcique ayant été exposées ailleurs (*Thèse*, 1916 : De l'immunité antipneumococcique; étude expérimentale), nous renvoyons à ce travail pour le détail de nos expériences et nous nous bornerons à résumer ici ce qui est nécessaire à la compréhension des mémoires qui paraîtront ultérieurement. A. R.

## CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

Nos expériences se rapportent, les unes à l'immunité active, les autres à l'immunité passive.

Neuf échantillons de pneumocoques ont été étudiés. Nous les avons choisis, à dessein, de virulences différentes, et l'on peut à cet égard les classer de la façon suivante :

Un échantillon (A) est avirulent (virulence très légère pour la souris cependant).

Un échantillon (II) est très virulent pour la souris, mais pour elle seulement.

Deux échantillons (N et F) sont virulents pour la souris et le lapin.

Cinq échantillons ( $C_5$ ,  $L_1$ ,  $L_2$ , 286, 312) sont virulents pour la souris, le lapin et le cobaye. A l'exception de A, nos germes sont tous solubles dans la bile (1). Ils ne présentent d'ailleurs aucune anomalie remarquable quant à leurs caractères morphologiques et culturels, et pour tous le diagnostic de « pneumocoque » s'impose (A noter cependant la singulière résistance de l'échantillon avirulent pour la chaleur, ce germe n'étant pas détruit après une heure de chauffage à  $80^\circ$ ).

## Immunité active.

Dans toutes nos expériences, nous ne nous sommes servie que de vaccin chauffé : on centrifuge une culture de vingt-quatre heures en milieu T, le culot est émulsionné dans de l'eau physiologique puis chauffé pendant une demi-heure à  $55^\circ$ .

## EXPÉRIENCES SUR LA SOURIS.

La voie sous-cutanée a été seule utilisée pour l'immunisation et pour l'épreuve.

La dose de vaccin a varié mais a toujours été considérable par rapport au poids de l'animal.

(1) CH. TRUCHE, L. COTONI et A. RAPHAEL, Action de la bile sur les pneumocoques humains et animaux. *Ces Annales*, octobre 1913.



L'épreuve a été faite cinq, dix, quinze ou vingt jours après la vaccination.

Deux échantillons (H et 312) ont été employés. Nous n'avons étudié que l'immunité *directe* : c'est-à-dire que, dans chaque cas, immunisation et épreuve ont été faites avec le même échantillon.

#### EXPÉRIENCES SUR LE LAPIN.

La voie intramusculaire (presque toujours) ou intraveineuse (rarement) ont été choisies pour la vaccination, la voie sous-cutanée pour l'épreuve.

La dose de vaccin a été la même dans toutes nos expériences (culot de 10 c. c. de culture).

L'épreuve a lieu huit jours après la vaccination.

Nous avons étudié les propriétés vaccinales de 5 échantillons (A, H, 286, F, 312) de virulences bien caractérisées et nettement différenciées. (Rappelons que le pneumocoque A résistant au chauffage d'une demi-heure à 55°, le vaccin A est un vaccin chauffé mais vivant). L'épreuve a été faite avec les 6 échantillons F, C, L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, 286, 312; il s'agit donc d'expériences d'immunité *directe* (vaccination et épreuve avec le même germe) et *croisée* (vaccination et épreuve avec des germes différents).

#### Immunité passive.

Des sérums ont été préparés chez le mouton avec les échantillons A, H, 286, F et 312 — chez le lapin avec l'échantillon 312. Chaque sérum a été préparé avec un seul échantillon. — Nous avons cherché à obtenir l'hyperimmunisation par l'injection de *microbes vivants*; il a fallu y renoncer pour le lapin et recourir aux *vaccins chauffés*; les moutons ont mieux résisté, mais là encore de nombreux accidents toxiques ou infectieux incitent à ne pas poursuivre dans cette voie et à recourir, comme pour le lapin, aux vaccins tués par la chaleur ou autrement.

Les titrages ont été faits sur le lapin et la souris. Nous n'avons étudié que la méthode préventive, l'injection de sérum précédant de vingt-quatre heures celle du virus.

## EXPÉRIENCES SUR LA SOURIS.

Les sérums ont été injectés sous la peau ou dans les muscles; l'épreuve a été faite par voie sous-cutanée avec les échantillons H, F, N, L<sub>2</sub>, 286 et 312 (expériences d'immunité *directe* et *croisée*).

## EXPÉRIENCES SUR LE LAPIN.

Les sérums ont été injectés dans les veines ou dans les muscles; l'épreuve a été faite par voie sous-cutanée (exceptionnellement intraveineuse) avec les échantillons F, N, 286 et 312 (expériences d'immunité *directe* et *croisée*).

## EXPOSÉ ET DISCUSSION DES RÉSULTATS

## Immunité active.

## EXPÉRIENCES SUR LA SOURIS.

Sur 49 souris vaccinées, 3 seulement ont résisté à l'épreuve. Ces rares succès ne semblent en rapport ni avec le moment choisi pour l'épreuve, ni avec la dose employée pour la vaccination.

On est donc en droit de conclure *qu'il est extrêmement difficile, peut-être même impossible, d'immuniser la souris contre le pneumocoque.*

## EXPÉRIENCES SUR LE LAPIN.

Les propriétés immunisantes doivent être étudiées à deux points de vue essentiels :

1° Quant à leur *étendue*. Selon le nombre d'échantillons à l'égard desquels un pneumocoque manifeste son pouvoir vaccinant, nous dirons que le domaine de ce pneumocoque est plus ou moins étendu.

2° Quant à leur *intensité*. Nous distinguerons : l'immunité *totale* (aucun symptôme morbide général ou local chez tous les animaux éprouvés); l'immunité *incomplète* (symptômes généraux et locaux chez tous les animaux éprouvés, ou survie

inconstante) ; l'immunité *nulle* (les animaux éprouvés se comportent comme les témoins).

Nos expériences peuvent dès lors se résumer de la façon suivante :

1° Un seul de nos vaccins, celui qui a été préparé avec le pneumocoque A, n'a immunisé contre aucun des échantillons d'épreuve. Les autres vaccins ont manifesté leur pouvoir immunisant contre un nombre variable d'échantillons, nombre d'autant plus grand que la virulence du pneumocoque-vaccin était plus grande : réduit à zéro pour le vaccin A (avirulent) ce nombre a été porté au maximum pour le vaccin 312 (le plus virulent de tous nos échantillons) qui a immunisé contre tous les pneumocoques d'épreuve. *L'étendue du domaine immunisant d'un pneumocoque donné nous apparaît donc comme liée à la virulence de ce pneumocoque.* Ajoutons que, dans tous les cas où l'étude a pu en être faite, il y a eu immunité directe; cette épreuve a été impossible, cela va de soi, en ce qui concerne les vaccins A et H, ces échantillons étant avirulents pour le lapin.

2° Mais pour un vaccin déterminé, l'intensité du pouvoir immunisant n'est pas nécessairement la même vis-à-vis des divers pneumocoques qui font partie de son domaine. C'est ainsi que, des 6 échantillons à l'égard desquels le vaccin 312 manifeste son pouvoir, pour 4 il s'agit d'immunité totale, pour les 2 autres d'immunité incomplète seulement.

On arrive ainsi à concevoir un pneumocoque comme un organisme complexe, un assemblage d'*éléments* doués de propriétés *antigènes* et que l'on pourrait appeler les *antigènes élémentaires*. — A chaque échantillon vis-à-vis duquel un pneumocoque conférerait l'immunité correspondrait, dans ce pneumocoque, un de ces éléments constitutifs. De même qu'il y a des degrés dans l'immunité, de même il y a une hiérarchie dans les antigènes élémentaires : les uns, entrant pour une part *dominante* dans la constitution d'un vaccin déterminé, donneront l'immunité totale vis-à-vis de l'échantillon correspondant; les autres, de moindre importance, sont en rapport avec une immunité incomplète.

A la notion de l'étendue du pouvoir immunisant correspond donc celle de la *richesse* en antigènes élémentaires; à la notion de l'intensité du pouvoir immunisant correspond celle

de la **dominance** de certains antigènes par rapport aux autres.

Supposons que dans plusieurs échantillons les antigènes dominants et accessoires soient les mêmes. Ces échantillons constitueront ce que l'on est convenu d'appeler un **groupe**. (On sait que certains auteurs, et en particulier les Américains, admettent la subdivision de l'espèce pneumocoque en un petit nombre de groupes.) Nos expériences ont été faites sur une trop petite échelle pour qu'il nous soit possible d'apporter des arguments irréfutables; mais il est important de faire remarquer que dans aucun des cas étudiés nous n'avons trouvé chez deux échantillons le même assemblage d'antigènes élémentaires.

### Immunité passive.

#### EXPÉRIENCES SUR LE LAPIN.

Les résultats sont d'une remarquable uniformité : chaque sérum donne l'immunité vis-à-vis du pneumocoque qui a servi à le préparer. Là se borne leur domaine. Chacun d'eux n'exerce son action sur aucun autre pneumocoque.

Titrés sur le lapin nos sérums nous apparaissent donc comme étant **strictement monovalents**.

#### EXPÉRIENCES SUR LA SOURIS.

Dans l'ensemble, nous avons observé des faits du même ordre que ceux que nous avons exposés au sujet de l'immunité active du lapin. (Nous n'insisterons pas sur certaines divergences de détail sur lesquelles nous nous sommes expliquée longuement dans le travail cité plus haut.)

1° Nos expériences ont montré en effet l'importance du facteur *virulence* en ce qui concerne le germe qui sert à préparer le sérum. Dans aucun cas nous n'avons obtenu de bon sérum avec des pneumocoques avirulents ou peu virulents. *Seuls les pneumocoques très virulents ont fourni des sérums à domaine étendu*;

2° Ici comme précédemment nous avons observé des immunités d'intensité variée et constaté par conséquent la présence d'antigènes élémentaires dominants et accessoires ;

3° Ici encore nos expériences sont défavorables, d'une



manière générale, à la théorie des groupes; cependant deux de nos sérums font exception, car ils ont des domaines identiques et constituent ainsi le seul exemple de groupe qui se soit présenté au cours de cette étude.

En outre, la comparaison d'un sérum ovin préparé avec des microbes vivants et d'un sérum de lapin préparé avec le même germe tué par la chaleur, permet d'affirmer *qu'un chauffage modéré ne diminue en rien les propriétés antigènes du pneumocoque.*

Vaccine-t-on la souris contre le pneumocoque, aucun anticorps n'apparaît, et tout se passe comme si le pneumocoque était totalement dénué de propriétés antigènes. Cherche-t-on à immuniser passivement le lapin au moyen d'un sérum anti-pneumococcique, tout se passe comme si ce sérum était strictement monovalent, et comme si le pneumocoque qui avait servi à le préparer ne renfermait qu'un seul antigène, son antigène propre. Et cependant l'immunisation active du lapin, passive de la souris, mettent en évidence la richesse en antigènes des mêmes échantillons de pneumocoques.

Cela montre toute l'importance, dans ce problème complexe, des conditions expérimentales et en particulier du choix de l'animal mis en expérience.

En effet pour qu'il y ait immunité active, il faut : 1° Que le microbe immunisant soit pourvu de propriétés antigènes susceptibles de provoquer la formation des anticorps correspondants ; 2° que l'animal immunisé soit capable de répondre à cet appel en fabriquant ces anticorps. Aux propriétés antigènes du microbe s'opposent donc ce que nous nommons, au laboratoire de M. Nicolle, les propriétés « antipoiétiques » de l'animal. Et nous dirons qu'à l'égard du pneumocoque, la souris nous apparaît comme étant dépourvue de propriétés antipoiétiques. *L'immunisation active de la souris est donc une méthode inutilisable si l'on se propose de faire l'analyse antigène du pneumocoque.*

De même, pour qu'il y ait immunité passive, il faut non seulement préparer un sérum avec un germe judicieusement choisi, hyperimmuniser un animal susceptible de fournir des anticorps; encore faut-il étudier ce sérum sur un sujet capable

de profiter de ses propriétés. Nos expériences montrent que *l'animal passivement immunisé n'est pas rigoureusement « passif », mais qu'il peut intervenir au contraire activement pour révéler les propriétés du sérum qu'on lui injecte.*

Entre les données de l'immunisation passive du lapin, d'une part — de l'immunisation active du lapin, passive de la souris, d'autre part — il y a d'ailleurs contradiction plus apparente que réelle. Quand on injecte un sérum à un lapin, tout se passe, avons-nous dit, comme si le pneumocoque qui avait servi à l'hyperimmunisation ne renfermait qu'un seul antigène, son antigène spécifique. Cela démontre simplement que de tous les antigènes élémentaires contenus dans ce pneumocoque, l'antigène spécifique, caractéristique, de l'échantillon, occupe le premier plan, puisque, quand les conditions expérimentales sont défavorables, l'anticorps correspondant apparaît seul. Considérées isolément, les expériences d'immunité passive du lapin semblent montrer des différences **qualitatives** essentielles, irréductibles, entre les divers pneumocoques; mais ces différences se ramènent aisément à des différences **quantitatives**, à la lumière des données de l'immunité active du lapin (ou passive de la souris) qui apportent la notion de la **dominance**.

### CONCLUSIONS

Au point de vue antigène, tous les pneumocoques ne sont pas égaux entre eux; c'est ce qui ressort avec évidence de nos recherches. Il en résulte que la préparation d'un sérum anti-pneumococcique comportera une première série d'opérations qui auront pour but le choix de l'échantillon. Les connaissances que nous venons d'acquérir serviront de base à cette recherche. On éliminera d'emblée tous les germes dépourvus de virulence ou doués d'une virulence faible. La richesse en antigènes des échantillons virulents sera étudiée par l'immunisation active du lapin. Alors, mais alors seulement, on pourra procéder à l'hyperimmunisation des grands animaux avec quelque chance de succès.

## ÉTUDE EXPÉRIMENTALE SUR LA SÉROTHÉRAPIE ANTIGONOCOCCIQUE

par FÉLIX TERRIEN, ROBERT DEBRÉ et JEAN PARAF.

Pour apprécier la valeur de la sérothérapie antigonococcique, il est nécessaire tout d'abord de déterminer chez l'animal une infection à gonocoques aussi régulière que possible dans ses lésions et son évolution. On examinera ensuite dans quelle mesure l'emploi du sérum spécifique arrête ou modifie cette maladie expérimentale.

Des recherches antérieures, poursuivies par deux d'entre nous (1), ont montré que l'injection de gonocoques dans la chambre antérieure de l'œil du lapin donnait lieu à une ophtalmie bien caractérisée. Nous avons repris l'étude clinique et anatomique de cette ophtalmie gonococcique. L'exposé de nos constatations formera la première partie de ce mémoire.

Pour qu'il puisse agir efficacement, le sérum antigonococcique doit être injecté au niveau même du foyer morbide; nous avons donc examiné les effets produits par le sérum antigonococcique, en l'injectant dans la chambre antérieure de l'œil, au cours de l'infection que nous avons déterminée. L'analyse des effets de cette sérothérapie intra-oculaire constituera la deuxième partie de ce travail.

Nous avons employé pour cette étude le sérum préparé à l'Institut Pasteur par M. M. Nicolle. M. M. Nicolle nous a encouragés et aidés dans nos recherches. Nous tenons à l'en remercier.

(1) ROBERT DEBRÉ et JEAN PARAF, Bases expérimentales de la sérothérapie antigonococcique. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXV, 1913, p. 512. — Méningite cérébro-spinale aiguë déterminée chez le singe, son traitement par le sérum antigonococcique. *Ibid.*, p. 556. — Immunisation des lapins, *Ibid.*, t. LXXVI, 1914, p. 88.

## I

L'animal sur lequel nous avons expérimenté est le lapin. Le choix de la race n'est pas indifférent. Certains sujets appartenant à la race « Argenté de Champagne » ou « Bleu de Beuvraigne » présentaient des lésions oculaires plus graves et d'une guérison plus difficile que le lapin de clapier.

Nous nous sommes servis presque exclusivement des deux races de gonocoques, employées par M. Nicolle pour l'immunisation des chevaux. Pareille méthode nous permettait d'avoir une grande fixité dans nos expériences et d'étudier l'action des sérums homologues et hétérologues sur l'infection provoquée expérimentalement. La race la plus fréquemment employée est désignée ainsi : Gono. 9 ; la seconde race moins employée : Gono. 5. Nous nommerons les sérums correspondants (sérums des chevaux immunisés) sérum Gono. 9 et sérum Gono. 5. Les gonocoques injectés provenaient de cultures âgées de quarante-huit heures, sur gélose-ascite au tiers. Dans quelques cas exceptionnels, nous avons employé des cultures sur gélose-sang humain (4 à 2 cent. cubes de sang humain mélangé à 8 à 10 cent. cubes de gélose, fondue à 45°-50°).

Une anse de culture, bien émulsionnée dans 4 cent. cubes d'eau salée (à 7 pour 1000), constituait le matériel à injecter en quantités définies (avec un peu d'habitude on réalise des émulsions parfaitement comparables). Chez deux animaux nous avons injecté des gonocoques tués par la chaleur (séjour de cinq minutes au bain-marie à 80°). Les lésions et l'évolution morbide ont été les mêmes que chez les animaux injectés avec des gonocoques vivants. Pour pratiquer l'injection dans la chambre antérieure, nous procédions de la façon suivante :

Après anesthésie locale, au moyen de l'instillation dans le cul-de-sac conjonctival de quelques gouttes de la solution stérilisée de chlorhydrate de cocaïne à 5 p. 100, l'animal est immobilisé dans un appareil de contention et les culs-de-sac sont lavés avec la solution de cyanure d'Hg à 0,10 centigr. p. 1000. Le globe est fixé tout contre le limbe, tandis qu'une aiguille fine en platine iridié est enfoncée à deux millimètres en avant du limbe scléro-cornéen et parallèlement à la face anté-



rière de l'iris, près de la périphérie de cette membrane, afin d'éviter la blessure du cristallin.

On laisse s'écouler l'humeur aqueuse, puis une seringue (de préférence la seringue de Barthélemy) chargée de 0 c. c. 4 de l'émulsion microbienne est adaptée à l'aiguille et l'injection est poussée lentement dans la chambre antérieure. L'aiguille est ensuite rapidement retirée et, en raison de l'exiguïté de la piqure et de son trajet oblique dans l'épaisseur de la cornée, c'est à peine si une ou deux petites gouttes du liquide injecté s'échappent au dehors.

Chaque série d'expériences comportait en général quatre animaux. Deux d'entre eux étaient ultérieurement traités par le sérum et les deux autres étant gardés comme témoins, nous laissons chez eux la maladie évoluer spontanément. Ce sont les signes présentés par ces animaux témoins — au nombre de 21 — que nous exposerons tout d'abord.

## II

Dans tous les cas, les symptômes ont été sensiblement identiques, sauf dans quatre cas, où les lésions ont été plus légères, et dans trois cas, où elles furent plus graves que ne le comportait l'évolution habituelle : nous décrirons tout d'abord les signes observés chez les 14 animaux ayant présenté la forme clinique normale ; 10 d'entre eux ont été infectés par une émulsion de la culture Gono. 9 et quatre d'entre eux par une émulsion de la culture Gono. 5. Les symptômes sont ceux d'une irido-choroïdite plastique, suppurative à forme subaiguë avec tendance à l'hypertonie. Nous étudierons successivement les altérations de l'iris, celles de la chambre antérieure, de la cornée, des vaisseaux ciliaires et de la conjonctive.

a) Très rapidement, dans les premières heures qui suivent l'injection, l'iris perd son aspect brillant, sa surface antérieure se trouble en même temps que l'humeur aqueuse. La pupille devient plus petite que du côté sain et aussi moins noire. Elle prend une coloration grisâtre et on voit apparaître sur le bord pupillaire un très léger exsudat occupant tout son pourtour, formant un anneau de un à deux millimètres de large et qui très vite détermine une séclusion pupillaire.

Le lendemain de l'injection les symptômes s'accroissent ; le trouble de la chambre antérieure augmente, quelquefois au point de ne pas permettre l'examen de la face antérieure de l'iris, et les exsudats se collectent à la partie

inférieure sous forme d'un hypopyon de coloration jaune grisâtre, très épais, fibrinoïde, qui se déplace mal sous l'influence des mouvements du globe. D'importance variable, il mesure en moyenne deux millimètres de hauteur ; souvent il atteint le bord inférieur de la pupille ou même le diamètre transversal de celle-ci. L'iris, quand il est encore visible, est fortement infiltré, épaissi, il montre par place de véritables petits abcès et à sa surface se voient des exsudats purulents, gris jaunâtre, reliés à l'hypopyon par des traînées de même nature.

b) La cornée présente le plus souvent de minimes abcès siégeant surtout à l'endroit de la piqure et résultant sans doute d'une pénétration de l'aiguille entre les lames de tissu. De plus, elle montre une opalescence diffuse et prend une teinte gris bleuâtre qui n'est généralement visible qu'à la période de régression, quand l'hypopyon a diminué et que les exsudats iriens sont en voie de disparition. Cette opalescence cornéenne est la règle. Elle est d'ordinaire peu accentuée, à peine assez marquée pour gêner l'examen de la membrane irienne : mais en même temps la cornée s'amincit, se distend, prend une forme conique, le globe augmente de volume et le tonus s'élève, l'hypertonie entraîne une distension progressive de l'œil dans tous ses diamètres ; en même temps que la cornée s'agrandit, le globe devient hydrophtalme.

c) La réaction ciliaire et l'injection périkeratique sont toujours minimales, et en rapport avec l'évolution subaiguë du processus. La conjonctive bulbaire est modérément injectée. Le maximum de l'injection porte naturellement sur la région limbaire, et diminue à mesure qu'on s'en éloigne, pour disparaître à cinq ou dix millimètres du limbe.

d) La conjonctive est également un peu injectée, mais là encore, la réaction est d'ordinaire modérée et limitée à la région bulbaire, au pourtour du limbe scléro-cornéen.

Quelquefois l'injection est plus accentuée : la conjonctive, assez fortement infiltrée, surplombe légèrement le limbe et empiète sur le pourtour de la cornée qu'elle enchâsse à la manière d'un anneau de 2, 3, 4 et même 6 millimètres de large. L'aspect rappelle celui du pannus de la conjonctivite granuleuse, avec cette différence que la déformation est très régulièrement disposée ici sur toute la périphérie de la cornée et ne s'étend pas davantage en un point qu'en un autre. Cette sorte de pannus annulaire est constante lorsque la réaction irienne est très vive et accompagnée d'exsudats et d'hypertonie accentués. Il est alors tellement marqué qu'il peut faire croire à une véritable hémorragie. Dans un cas, où l'hypertonie était très élevée, le globe avait un aspect piriforme, la cornée était devenue conique ; seule la partie centrale était demeurée transparente, et tout le reste de la membrane était recouvert par une large bande annulaire de ce tissu vasculaire néoformé.

Dans les cas favorables, après une durée de douze à quinze jours, les exsudats se résorbent en partie, l'hypopyon disparaît, mais le champ pupillaire demeure obstrué et le tonus reste élevé, conséquence de l'oblitération des voies d'excrétion par les exsudats. Dans les cas moins favorables, l'hypopyon tarde à se résorber, on assiste à une désorganisation du globe par irido-choroïdite suppurée et l'œil s'atrophie.

Telle est la forme clinique habituelle de l'ophtalmie gonococcique expérimentale, déterminée dans les conditions indiquées plus haut. Elle est caractérisée par une irido-choroïdite suppu-

rative d'allure torpide avec phénomènes réactionnels modérés, mais tendance exsudative très marquée, des exsudats obstruant le champ pupillaire, s'accumulant à la partie la plus déclive de la chambre antérieure sous forme d'hypopyon et entraînant secondairement l'élévation du tonus et la distension du globe par obstruction des voies de filtration. L'injection conjonctivale et périkeratique sont d'ordinaire modérées. La première donne

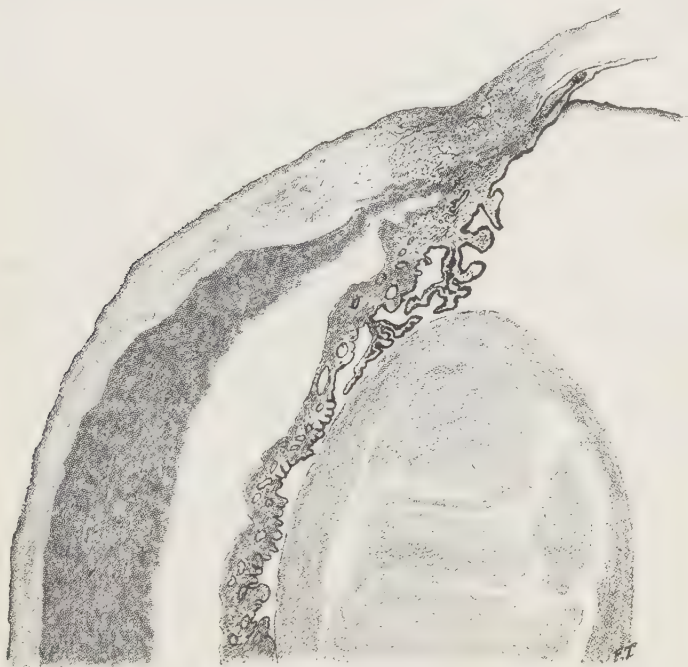


FIG. 1. — *Lapin n° 5*. Segment antérieur du globe oculaire. Coupe méridienne. Injection de culture de Gono. 9 dans la chambre antérieure. Sixième jour. Gross. : 12 diamètres.

Les lésions portent surtout sur la région de l'angle irien, sur l'iris et sur la chambre antérieure, occupée presque en totalité par un hypopyon qui dépasse le bord supérieur de la pupille. Iris infiltré et très vasculaire surtout au niveau de la région de l'angle irien. L'infiltration leucocytaire s'étend de chaque côté du limbe scléro-cornéen et les vaisseaux périlimbaires sont très dilatés, conséquence de l'injection périkeratique. La rétine est décollée au niveau de l'ora-serrata. Le cristallin est normal et la cornée, demeurée transparente, l'est également.

lieu dans les formes sévères à la formation d'un pannus annulaire.

Dans quelques cas exceptionnels (4 sur 21), les symptômes furent plus légers (trois animaux infectés avec une émulsion de la culture Gono. 9 et un animal infecté avec une émulsion de la culture Gono. 5).

Les animaux ne présentaient qu'une injection périkeratique très minime, limitée à la région périlimbair, une légère décoloration de la face antérieure de l'iris, avec contraction de la pupille et aspect un peu louche de celle-ci; quelquefois même quelques exsudats se collectaient les jours suivants à la partie la plus déclive de la chambre antérieure et formaient là un hypopyon très limité et rapidement disparu. L'infection, dans ces formes très légères, peut se borner à ces seuls symptômes réactionnels très atténués. Très vite la membrane irienne reprend son brillant, la réaction péri-cornéenne diminue et disparaît et la pupille redevient d'un beau noir, montrant sur tout son pourtour un fin liséré grisâtre qui persiste et témoigne de l'inflammation antérieure.

Dans des circonstances plus rares encore (3 cas sur 21) la maladie, loin d'être aussi légère, se présente sous un aspect particulièrement grave. Très vite, dès le lendemain de l'injection, on constate une vascularisation péri-cornéenne très accusée, s'étendant à 3 ou 4 millimètres du limbe scléro-cornéen. La cornée et la chambre antérieure sont troubles, quelquefois même au point de ne laisser voir qu'avec beaucoup de difficultés la face antérieure de l'iris et la pupille. Ces dernières se montrent également très troubles et parsemées de petits foyers purulents, quelquefois déjà collectés à la partie inférieure de la chambre antérieure sous forme d'un hypopyon abondant, et souvent reliés à ce dernier par des traînées purulentes. Les jours suivants, l'hypopyon augmente encore et remplit le tiers, la moitié ou même les deux tiers de la chambre, il est toujours très épais et on n'observe guère de modifications sous l'influence de l'inclinaison de la tête de l'animal. Bientôt l'hypertension apparaît, la cornée se distend, prend une teinte opalescente et s'amincit. Cette hypertonie, très manifeste à la palpation, peut entraîner la perforation du globe, favorisée ici par la minceur de la cornée chez le lapin et par la ponction de la membrane. Dans les cas où semblable complication survient, la perforation siège concentriquement au limbe et à peu de distance de ce dernier.

En résumé, l'ophtalmie expérimentale, obtenue par l'inoculation, dans les conditions définies plus haut, d'une émulsion de gonocoques se caractérise par une irido-choroïdite suppurative atténuée avec phénomènes réactionnels minimes, mais à tendance exsudative manifeste, avec infiltration cornéenne et surtout irienne, trouble de la chambre antérieure et de la pupille et formation d'hypopyon. Elle évolue en dix à quinze jours, se termine par une obstruction partielle ou complète de la pupille, avec synéchies postérieures occupant souvent tout le pourtour de la pupille et opacités partielles de la cornée.

Exceptionnellement plus grave (3 cas sur 21), elle détermine des phénomènes réactionnels intenses avec exsudats abondants dans la chambre antérieure, le champ pupillaire, un hypopyon



considérable et aboutit ou bien à la perforation et à la phtisie du globe oculaire consécutive ou bien à l'occlusion totale de la pupille avec hypertonie secondaire. Rarement plus bénigne (4 cas sur 21), elle ne provoque qu'une réaction très minime avec quelques exsudats, un léger trouble de l'iris, tous phénomènes qui disparaissent très vite et laissent seulement des synéchies qui bordent le champ pupillaire et une occlusion



FIG. 2. — *Lapin n° 3.* Injection de culture de Gono. 9 dans la chambre antérieure. Sixième jour. Segment antérieur du globe. Coupe méridienne. Gross. : 12 diamètres.

Là aussi le maximum des lésions plus manifestes encore que dans la préparation précédente portent surtout sur la région de l'angle irien, la chambre antérieure et sur l'iris. La cornée n'est pas sensiblement altérée, le cristallin est normal et la choroïde est peu infiltrée.

La chambre antérieure est remplie par un hypopyon très épais, surtout au centre, qui atteint la moitié du champ pupillaire. Iris infiltré et fortement vascularisé, en particulier au niveau de la région de l'angle irien. L'infiltration en ce point empiète au dedans sur la cornée et au dehors sur la sclérotique. Cornée et cristallin normaux. Choroïde peu infiltrée.

partielle de la pupille avec parfois quelques exsudats pupillaires.

Ces données établies, nous allons examiner l'effet sur cette maladie du sérum spécifique.

### III

Nous avons précédemment reconnu que la meilleure méthode pour traiter par le sérum spécifique l'ophtalmie gonococcique expérimentale était l'injection du sérum dans la chambre antérieure, pratiquée vingt-quatre heures après l'inoculation du matériel virulent.

Pour l'injection du sérum, nous procédons comme pour l'injection de l'émulsion microbienne. L'animal est immobilisé, anesthésié, la seringue de Barthélemy chargée au préalable avec la quantité de sérum à injecter : 0 c. c. 4, très exactement mesurée, et le globe étant fixé avec la pince, l'aiguille de la seringue est enfoncée à quelques millimètres du limbe, parallèlement à la face antérieure de l'iris, en veillant à ne pas blesser le cristallin : mais ici l'issue d'humeur aqueuse est évitée, pour que la soustraction d'une certaine quantité de pus ne puisse modifier l'évolution ultérieure de la maladie.

Nous avons procédé ainsi à 27 expériences. Nous avons traité, tout d'abord, 16 animaux, qui avaient été infectés avec une émulsion de la culture Gono. 9, en leur injectant du sérum homologue, c'est-à-dire le sérum d'un cheval immunisé par des gonocoques de la même souche.

Déjà dès le lendemain et quelquefois le soir même de l'injection, on constate une différence très manifeste entre l'œil injecté et l'œil témoin. Elle porte d'ordinaire sur l'ensemble des symptômes : rougeur conjonctivale et périkératique moins accusées, trouble moins marqué dans la chambre antérieure, exsudats moins abondants, hypopyon plus lent à collecter, et toujours moins considérable, de plus tous les phénomènes inflammatoires regressent si rapidement qu'au bout de quatre à six jours après l'injection de sérum, l'iris a repris son brillant et les exsudats ont disparu, laissant seulement à la limite du champ pupillaire un fin liséré qui le borde sur tout son pourtour. Souvent aussi, on trouve de petits exsudats fibrinoïdes obstruant une partie de la pupille, alors que le reste

de celle-ci est absolument noire. Jamais on ne constate de pannus annulaire comme chez les animaux témoins.

L'évolution de l'ophtalmie gonococcique expérimentale diffère donc complètement suivant qu'elle est abandonnée à elle-même ou traitée vingt-quatre heures après son début par une injection intra-oculaire de sérum spécifique homologue : la gravité des lésions est beaucoup moindre, la rapidité de la guéri-



FIG. 3. — *Lapin n° 16.* Injection de culture de Gono. 9 dans la chambre antérieure. Huitième jour. Coupe méridienne du globe. Gross. : 12 diamètres.

Comme dans les figures précédentes les lésions portent à peu près uniquement sur la chambre antérieure, l'iris et la région ciliaire. Le cristallin est normal, la cornée peu altérée et la choroïde faiblement infiltrée et vascularisée.

L'hypopyon qui remontait jusqu'à la moitié inférieure du champ pupillaire était très épais et très adhérent à la face postérieure de la cornée. Iris fortement vasculaire et très infiltré de leucocytes, en particulier au niveau de la région ciliaire.

son beaucoup plus grande et les séquelles pathologiques, si importantes dans les cas non traités, sont presque nulles chez

les animaux qui ont reçu une injection de sérum. Ces résultats sont d'autant plus intéressants que dans chaque série nous avons choisi, pour les traiter, les animaux qui paraissaient le plus sérieusement touchés, laissant au contraire évoluer la maladie chez les animaux qui semblaient moins atteints.

A vrai dire, dans trois cas (sur nos 16 expériences), l'injection de sérum n'a pas modifié d'une façon apparente l'évolution de la maladie. Dans deux de ces cas, dès le lendemain de l'inoculation de l'émulsion microbienne, donc au moment même où le sérum a été injecté, les lésions étaient tellement graves qu'elles semblaient incurables, l'œil était violemment injecté, la cornée très infiltrée et la chambre antérieure aux trois quarts remplie de pus, dans un de ces cas même il y avait une perforation de la cornée avec une hernie irienne. Dans le troisième cas, l'ophtalmie ne se présentait pas avec une allure particulièrement sévère, et cependant l'injection de sérum ne l'a pas empêché d'évoluer d'une façon aussi fâcheusement grave que chez l'animal témoin.

D'autre part, 5 lapins, infectés avec des gonocoques, avec une émulsion de la culture Gono. 5, ont été traités par l'injection de sérum homologue (sérum d'un cheval immunisé avec la souche Gono. 5). Dans quatre cas les résultats ont été favorables. Dans un cas, grave à la vérité, le sérum a été inefficace.

*En résumé*, en employant le sérum homologue, sur 24 animaux nous n'avons observé que quatre échecs, et si l'on écarte les deux animaux, qui présentaient au moment de l'essai thérapeutique des lésions incurables, on constate que, sur dix-neuf tentatives de sérothérapie, deux seulement ont échoué.

Nos expériences avec des sérums hétérologues sont moins nombreuses : nous avons traité par le sérum Gono. 9 trois animaux infectés avec une émulsion de la culture Gono. 5, et par le sérum Gono. 5 trois animaux infectés avec une émulsion de la culture Gono. 9. Sur les six expériences, nous avons obtenu trois succès. Le sérum Gono. 9 a guéri dans de bonnes conditions deux animaux sur trois. Le sérum Gono. 5 a été très efficace dans un cas, médiocrement efficace dans le second cas, a échoué chez le troisième animal en expérience.

De ces 27 expériences (chiffre obtenu en additionnant les



21 « homologues » et les 6 « hétérologues ») deux doivent être défectueux comme il a été dit plus haut (lésions trop graves). Restent 23 animaux traités parmi lesquels 20 ont présenté une ophtalmie incomparablement moins grave au point de vue clinique que les témoins.

On peut donc fermement conclure que la sérothérapie antigonococcique employée dans les conditions d'expériences où nous nous sommes placés est remarquablement efficace.



FIG. 4. — *Lapin n° 20*. Injection de culture de Gono. 5 dans la chambre antérieure (dixième jour). Coupe méridienne du globe. Gross. : 5 diamètres.

L'hypopyon a disparu. Seule persiste l'infiltration de la région ciliaire et de la périphérie de la cornée, bien visible sur la figure suivante, qui montre la région de l'angle irien de la même préparation à un plus fort grossissement.

Mais en même temps on constate une soudure de la racine de l'iris à la face postérieure de la cornée et une excavation de la papille. Lésions d'autant plus intéressantes que cet œil au moment où il fut enlevé montrait une hypertension très manifeste, très appréciable au doigt et entraînant un léger trouble de la cornée.

#### IV

Quelques expériences de contrôle nous permettent d'affirmer une fois de plus que le sérum antigonococcique doit être in-

jecté dans le foyer même de l'infection (1). Deux animaux ont été traités par l'injection intramusculaire de 10 cent. cubes de sérum, un animal par l'injection intraveineuse de 10 cent. cubes, un autre animal par l'injection intraconjonctivale de 1/2 cent. cube. Ces différents essais thérapeutiques, pratiqués vingt-quatre heures après l'injection intra-oculaire de l'émulsion microbienne, n'ont été suivis d'aucun résultat et les lésions ont évolué exactement comme chez les animaux témoins.

L'injection intra-oculaire de sérum antidiphthérique et de sérum antiméningococcique est absolument inefficace (trois animaux).

Bien que nos expériences antérieures, confirmées par les recherches présentes, nous aient indiqué quel était le meilleur moment pour pratiquer l'injection de sérum, nous avons cependant tenté des injections de sérum à un moment plus rapproché de l'inoculation microbienne. Les résultats n'ont pas été favorables. Point particulier, l'injection de sérum pratiquée cinq heures après l'inoculation intraoculaire de gonocoques a paru augmenter provisoirement l'intensité des lésions, en particulier l'injection périkératique et la réaction irienne, l'hypopyon est apparu ensuite et toutes les lésions n'ont rétrocedé qu'assez lentement et incomplètement. Sur ce point, — fort intéressant au point de vue théorique, — nous n'avons pas assez d'expériences (quatre animaux) pour donner une conclusion formelle.

Nous avons pratiqué quelques injections préventives de sérum, l'injection de 0 c. c. 4 de sérum dans la chambre antérieure étant pratiquée vingt-quatre heures avant l'inoculation du matériel infectant. Nos résultats ont été les suivants :

Injections préventives de sérum homologue : trois résultats favorables et trois échecs (injection de sérum Gono. 9, et vingt-quatre heures après injection de l'émulsion de Gono. 9 : deux succès et deux insuccès. Injection de sérum Gono. 5 et vingt-quatre heures après injection de l'émulsion de Gono. 5 : un succès et un insuccès).

Injections préventives de sérum hétérologue : deux résul-

(1) ROBERT DEBRÉ et JEAN PARAP. Principes généraux et bases expérimentales de la sérothérapie antigonococcique. *La Presse Médicale*, 13 décembre 1913.

tats favorables et deux échecs (injection de sérum Gono. 9, puis vingt-quatre heures après injection de l'émulsion Gono. 5 : un succès, un insuccès. Injection de sérum Gono. 5, puis vingt-quatre heures après injection de l'émulsion Gono. 9 : un succès et un insuccès).

Si le pouvoir curatif du sérum est donc indéniable, à condition de l'employer dans de bonnes conditions, son pouvoir préventif est, pour le moins, douteux.

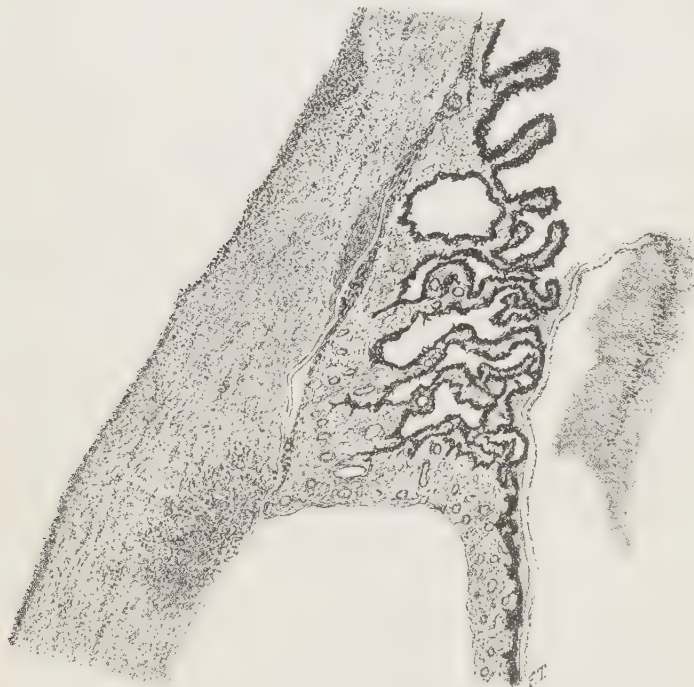


FIG. 5. — Même préparation que figure 4 à un grossissement plus fort (25 diamètres).

On voit bien l'infiltration leucocytaire de la cornée dans la région du canal de Schlemm et l'adhérence de la racine de l'iris à la face postérieure de la cornée. La membrane de Schlemm délimite les deux membranes, irienne et cornéenne.

## V

L'étude clinique des animaux en expérience devait être complétée par une étude anatomo-pathologique. Celle-ci nous a permis de faire les constatations suivantes :

Les lésions portent presque uniquement sur le segment antérieur du globe oculaire et se localisent surtout sur la région ciliaire, l'iris et la chambre antérieure, le cristallin demeurant normal et la cornée peu altérée. Ce sont, avant tout : une hypérémie de la membrane vasculaire du globe, surtout de l'iris et du corps ciliaire, une infiltration leucocytaire abondante avec formation d'exsudats plastiques et d'hypopyon.

Les lésions de la cornée sont d'ordinaire très minimes. Tout se borne à une infiltration très discrète, localisée seulement à certains points de la membrane et souvent uniquement à la périphérie, au voisinage du canal de Schlemm et dans la région du limbe scléro-cornéen. Celui-ci est toujours très fortement infiltré et l'infiltration se continue avec le corps ciliaire (fig. 1).

C'est dans l'iris et le corps ciliaire que les lésions atteignent leur maximum, surtout au niveau du corps ciliaire. Les vaisseaux sont dilatés, remplis de sang et on constate une infiltration leucocytaire très intense qui se continue avec celle de l'iris. En même temps on voit sur les surfaces antérieures et postérieures de celui-ci des exsudats, qui en arrière peuvent recouvrir la presque totalité de sa face postérieure et déterminer une adhérence étendue avec la face antérieure du cristallin (fig. 2).

La chambre antérieure est toujours plus ou moins remplie par un hypopyon résultant des exsudats purulents venus du corps ciliaire et de la face antérieure de l'iris et venant se collecter au point le plus déclive (fig. 1, 2 et 3). Cet hypopyon très épais est en majeure partie formé de globules de pus et de leucocytes englobés dans un réticulum fibrineux.

Le cristallin demeure normal et n'est jamais intéressé par l'infiltration. Dans la choroïde et la rétine les vaisseaux sont dilatés, mais l'infiltration demeure très minime, souvent insignifiante. La différence avec le segment antérieur est très manifeste ; aussi serait-il plus exact de parler ici d'irido-cyclite plutôt que d'irido-choroïdite. La rétine ne montre aucune altération, tout au moins pendant les premiers jours et celles qui surviennent ensuite sont la conséquence du décollement de cette membrane et non pas de l'infection du globe.

Les lésions précédemment décrites évoluent parfois vers une guérison relative, caractérisée par des synéchies postérieures



étendues et l'occlusion totale de la pupille ; dans les cas graves, on peut observer la phtisie du globe, conséquence habituelle des irido-cyclites sévères et longtemps prolongées. Plus souvent, elles se compliquent au bout d'une dizaine de jours d'hyper-tonie puis de distension de la totalité du glaucome. La pathogénie est ici celle du glaucome secondaire en général.

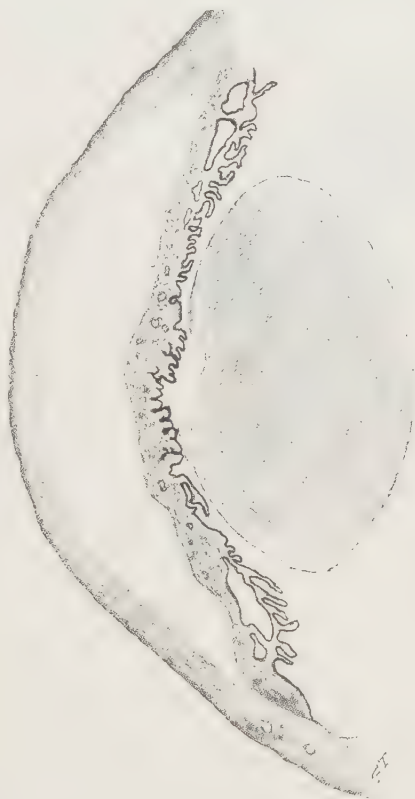


FIG. 6. — *Lapin n° 2*. Injection de culture diluée du Gono. 9 dans la chambre antérieure et vingt-quatre heures plus tard injection de sérum Gono. 9. Sixième jour. Segment antérieur du globe. Coupe méridienne. Gross. : 12 diamètres.

La cornée, le cristallin et même l'iris semblent normaux ; seul l'iris est encore assez vascularisé, légèrement infiltré et la cornée également un peu infiltrée au voisinage du canal de Schlemm. Mais les lésions sont insignifiantes, la chambre antérieure est normale et cette intégrité est d'autant plus curieuse si on compare cette figure à la figure 2, représentant l'œil d'un animal témoin, enlevé le même jour après avoir été injecté en même temps avec la même émulsion microbienne, mais qui n'a pas été traité par le sérum.

Les synéchies postérieures et l'occlusion pupillaire, combinées à l'adhérence de la racine de l'iris à la face postérieure de la cornée (fig. 4 et 5) entraînent un défaut d'excrétion et l'élévation de tonus, qui se traduit d'abord par le refoulement de la pupille, l'amincissement de la cornée et finalement la distension du globe.

Si l'on étudie, au contraire, les yeux énucléés après injection de sérum dans la chambre antérieure, la différence avec les yeux non traités apparaît très manifeste (fig. 6 et 7).

On ne constate presque plus trace d'hyperhémie ni d'infiltration leucocytaire, l'hypopyon et les exsudats font défaut, sauf au niveau du bord pupillaire et l'aspect est sensiblement celui de l'œil normal. Toutefois nous ne pouvons affirmer qu'à la longue l'hypertonie ne puisse se produire, en raison des synéchies postérieures qui persistent, en dépit de l'injection de sérum.

## VI. — Conclusions.

I. — L'injection dans la chambre antérieure de l'œil du lapin d'une émulsion de gonocoques provoque l'apparition d'une ophtalmie caractérisée par une irido-cyclite à forme torpide avec injection péri-kératique modérée, mais à tendance exsudative très manifeste avec formation de synéchies et hypopyon abondant. Elle évolue en dix à quinze jours, se termine par une occlusion totale de la pupille, avec exsudats dans le champ pupillaire et trouble partiel de la cornée.

Dans un tout petit nombre de cas, la maladie est plus légère et on constate seulement des synéchies du bord pupillaire et une légère décoloration de l'iris avec un peu de réaction péri-kératique et peu ou à peine d'hypopyon. Dans des circonstances plus rares encore, elle est plus grave et se traduit par une réaction très accentuée avec hypopyon considérable, quelquefois même perforation de la cornée et phtisie du globe. Malgré ces exceptions, on peut affirmer que l'ophtalmie gonococcique, réalisée de cette façon, a le caractère d'une maladie expérimentale suffisamment fixée dans ses caractères et constante dans son évolution. Les lésions sont caractérisées par une hypertonie du tractus irido-ciliaire avec infiltration leucocytaire très accentuée et hypopyon.

Les gonocoques ne se multiplient pas dans les lésions observées, comme différents auteurs, notamment M. Morax, l'ont déjà fait remarquer. Les lésions sont identiques, lorsqu'on injecte à l'animal des gonocoques tués par la chaleur.

II. — L'injection de 0 c. c. 3 de sérum spécifique dans la chambre antérieure de l'œil, pratiquée vingt-quatre heures après l'inoculation microbienne, modifie complètement l'évo-



FIG. 7. — *Lapin n° 6*. Injection de culture de Gono. 9 dans la chambre antérieure et injection vingt-quatre heures plus tard de sérum Gono. 9. Dixième jour. Segment antérieur du globe. (Coupe méridienne. Gross. : 42 diamètres.

Comme dans la figure précédente, les lésions insignifiantes portent sur la région ciliaire et la différence est frappante entre cet œil et l'œil d'un animal témoin (fig. 1) enlevé le même jour après avoir été injecté en même temps avec la même émulsion microbienne, mais qui n'a pas été traité par le sérum.

lution de la maladie; la gravité des lésions est beaucoup moindre; la guérison beaucoup plus rapide (quatre à six jours) et plus complète.

III. — L'injection intramusculaire, intraveineuse et intracon-

jonctivale de sérum est sans influence sur l'évolution de l'ophtalmie gonococcique; l'injection intraoculaire de sérum antiméningococcique ou antidiphthérique est aussi inefficace.

IV. — Le pouvoir préventif du sérum est douteux : les résultats de l'injection intraoculaire pratiquée vingt-quatre heures avant l'injection de microbes sont variables.

V. — Les heureux résultats de la sérothérapie antigonococcique observés au cours de nos expériences confirment ce que nous avons observé précédemment en employant le sérum de lapins immunisés. Ils ne permettent pas de préjuger des effets de la sérothérapie appliqués aux lésions humaines : dans le cas présent, les gonocoques ne se multiplient pas dans l'œil du lapin, et l'action du sérum se réduit à une action antiendo-toxique.



## DE

# L'ACTION DES SÉRUMS PAR LA VOIE RESPIRATOIRE

par A. BESREDKA.

Tous les modes d'inoculation furent utilisés au cours des recherches sur l'anaphylaxie et l'immunité : par les voies sous-cutanée, intrapéritonéale, intraveineuse, cérébrale, rachidienne, oculaire, buccale et rectale. Seule fut laissée de côté la voie laryngo-trachéale. Sur la foi des physiologistes réservant la trachée-artère avec ses vastes dépendances exclusivement à la circulation de l'air, les bactériologistes n'osèrent l'aborder que dans des cas exceptionnels : les essais d'infection par la voie respiratoire se comptent. Les doctrines de l'immunité et de l'anaphylaxie furent édifiées, tout entières, sans que nul ne s'avisât de forcer cette porte condamnée.

Or, il est indéniable que l'injection laryngée — de sérum, virus, vaccin ou médicament (novarsénobenzol ou autre) — qui ne comporte aucune effraction de tissu, constitue pour l'organisme une injure moins grave qu'une injection à travers les tissus, celle-ci ne fût-elle que sous-cutanée.

Nous nous réservons de revenir sur l'absorption des virus, des vaccins et des médicaments. Dans la présente note, nous ne nous occuperons que de l'action des sérums, en tant qu'elle intéresse l'*anaphylaxie* et l'*immunité passive*.

Trois questions se posèrent à nous :

a) Chez l'animal neuf, le sérum introduit par la voie laryngée est-il inoffensif ?

b) Chez l'animal anaphylactisé, le sérum introduit par cette voie est-il susceptible de déclancher le choc ?

c) Dans le cas de sérum thérapeutique, ce dernier introduit par la voie aérienne confère-t-il l'immunité passive ?

a) Au moyen d'une sonde ou par ponction trachéale, nous administrons à des cobayes et à des lapins du sérum normal de

cheval. En augmentant progressivement les doses, nous constatons que la voie respiratoire ne le cède en rien, quant à sa tolérance, à d'autres, telles que les voies intrapéritonéale ou intraveineuse.

Pour réduire la masse de liquide, nous préparons du sérum concentré : dans un ballon renfermant du sérum de cheval (250 cent. cubes), nous laissons tomber, en en répartissant également sur toute la surface du liquide, du sérum desséché (100 grammes) ; le tout est laissé au repos jusqu'à la dissolution complète. De ce sérum concentré dont 1 cent. cube équivaut à 5 cent. cubes de sérum ordinaire, on peut introduire 2 cent. cubes (= 10 cent. cubes) dans la trachée de cobaye (350 gr.), sans provoquer aucun trouble.

L'innocuité du sérum par la voie aérienne pour l'animal neuf est donc certaine. Reste à savoir comment se comporte l'animal sensibilisé.

b) Des cobayes ayant reçu sous la peau de petites quantités de sérum de cheval (1/100-1/600) ou de blanc d'œuf (1/100 c.c.) sont soumis, quinze jours à trois semaines après, à l'épreuve intratrachéale. L'expérience montre que, dans ce cas, les choses se passent exactement comme si l'épreuve avait été pratiquée par la voie veineuse ou cérébrale. Il suffit, en effet, d'introduire 1/15—1/10 de centimètre cube de sérum de cheval ou 1/100 de centimètre cube de blanc d'œuf dans la trachée, pour provoquer le choc anaphylactique. Donc, chez le cobaye anaphylactisé, la voie trachéale est à peu près aussi sensible que la voie sanguine.

Il va sans dire que le procédé de vaccination par doses sub-intrantes s'applique à la voie laryngée tout comme à la voie veineuse.

Mais où les deux voies ne se ressemblent pas, c'est lorsqu'il s'agit de liquides visqueux ou tenant en suspension des particules solides. Vis-à-vis de ces liquides, l'appareil trachéo-bronchique possède une tolérance qui en fait une porte d'entrée extrêmement précieuse, surtout chez l'animal en état d'anaphylaxie.

Si, en effet, au lieu de sérum liquide, se résorbant vite par la muqueuse respiratoire, nous nous adressons à du sérum de consistance sirupeuse, l'avantage de la voie laryngée ressort

avec évidence. En raison de sa consistance, la résorption d'un tel sérum se trouve ralenti. La solubilisation s'effectuant par étapes, les premières portions de sérum dissous ont le temps de vacciner l'animal — antianaphylactiquement — contre les portions de sérum entrant en solution subséquemment. L'animal réalise de la sorte lui-même sa vaccination par le procédé des doses subintrantes, et, de ce fait, il est à même de supporter, en une seule fois, quoique sensibilisé, des doses très élevées de sérum.

Pour donner au sérum la consistance sirupeuse, nous procédons de deux façons : ou nous le concentrons, selon le procédé indiqué plus haut, de cinq fois, ou nous le transformons en émulsion ; dans ce dernier cas, nous faisons usage de sérum sec ; celui-ci, finement pulvérisé, est projeté à la surface d'un excipient visqueux — huile d'olive ou mélange de jaune et de blanc d'œuf ; la suspension ainsi obtenue est bien supportée par la voie laryngée. Le cobaye sensibilisé, qui succomberait à l'injection intrachéale de 1/10—1/15 de centimètre cube de sérum ordinaire, supporte d'emblée des doses dix—vingt fois supérieures de sérum semi-liquide ; pour ce qui concerne le sérum solide en suspension, la tolérance de l'animal ne se trouve limitée que par celle qu'il offre envers l'excipient.

c) La facilité avec laquelle est provoqué le choc, lorsqu'on emprunte la voie laryngée, témoigne du pouvoir d'absorption considérable de la muqueuse respiratoire envers le sérum. Ce pouvoir s'étend-t-il aux anticorps contenus dans les sérums thérapeutiques ?

L'expérience nous a montré que, sous ce rapport, la voie laryngo-trachéale se comporte comme la voie veineuse. L'immunité, consécutive à l'injection laryngée, s'établit très rapidement et elle dure une huitaine de jours, en moyenne.

Nos expériences ont porté sur les sérums antidiphtérique et antitétanique. Des cobayes et des lapins, ayant reçu de ces sérums par la voie respiratoire, ont été aussitôt inoculés avec de fortes doses (30-50 fois mortelles) de toxine diphtérique ou tétanique. Aucun des animaux préparés par le sérum n'est mort ; tous les animaux témoins ont succombé en vingt à trente-six heures.



### Conclusions.

La voie aérienne se prête aisément à l'absorption de grandes quantités de sérum.

Introduit par le larynx, le sérum est complètement inoffensif chez l'animal neuf; il fait éclater le choc anaphylactique mortel, chez l'animal sensibilisé.

Les accidents anaphylactiques sont d'autant plus faciles à éviter par la voie laryngée, que la consistance du sérum se rapproche plus de l'état solide.

La rapidité de résorption, l'absence de danger anaphylactique jointes à la simplicité de la technique opératoire font du canal laryngo-trachéal la voie de prédilection pour la sérothérapie chez l'homme.



## **ABREUVOIR POUR RATS ET SOURIS**

**PERMETTANT ÉGALEMENT**

**L'ABSORPTION, SANS PERTES NI SOUILLURES, DE SOLUTIONS**

**DIVERSES A DOSES CONTROLABLES**

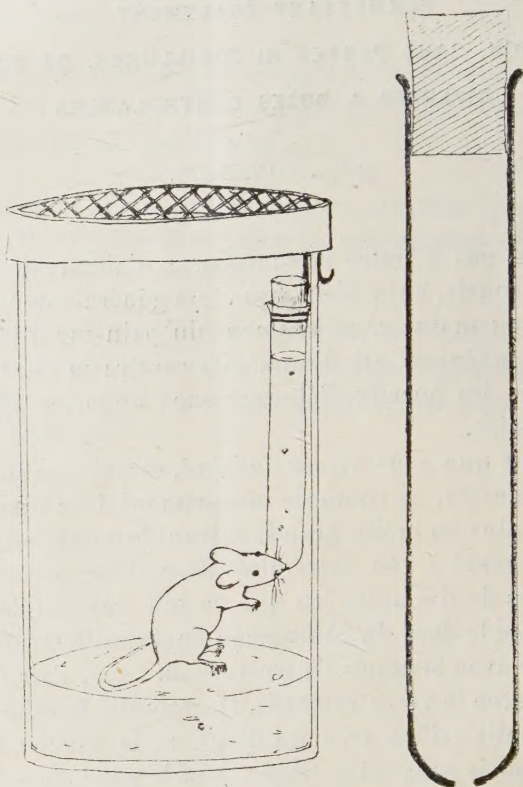
par A. PONSELLE.

Il n'existe pas à notre connaissance d'abreuvoir pratique pour rats et souris, aussi s'en passe-t-on généralement. On leur donne plus ou moins régulièrement du pain mouillé, dont le moindre inconvénient est d'humidifier outre mesure le grain contenu dans les bocalx d'élevage sans apporter la quantité d'eau nécessaire.

L'abreuvoir que nous avons imaginé, et qui semble remplir tous les desiderata, se compose simplement d'un tube à essais de diamètre plus ou moins grand, suivant le nombre d'animaux à abreuver, percé à son extrémité close d'un orifice de 2 à 4 millimètres de diamètre (ce qui se fait très simplement en chauffant avec le dard du chalumeau l'extrémité fermée, tandis qu'on obture avec le pouce l'ouverture du tube, l'air dilaté par la chaleur perce le verre ramolli). On remplit le tube d'eau en fermant le petit orifice avec un doigt, on le bouche au caoutchouc (les souris rongent le liège) et on le pend dans le bocal à l'aide d'un collier en fil métallique. L'eau se maintient dans le tube par la pression atmosphérique et les rongeurs pour s'abreuver viennent lécher l'ouverture par laquelle l'eau descend par gouttes proportionnellement à la rentrée d'air. Les rats, les souris sauvages ou domestiques, utilisent sans hésitation cet abreuvoir, ainsi que les mulots même pris au piège peu de temps auparavant.

Ce petit appareil gradué avec plus ou moins de précision peut servir à faire absorber aux petits rongeurs, sans pertes ni souillures, des doses connues de liquides ou de solutions variées pourvu que le goût n'en soit pas trop désagréable.

Nous pensons donc qu'en plus de l'aide qu'il apportera à l'élevage rationnel des petits rongeurs, cet abreuvoir sera de quelque utilité à ceux qui ont à cœur de maintenir dans les meilleures conditions possible les animaux en expérience



et rendra des services dans les études de chimiothérapie, ou d'alimentation, que les recherches récentes sur les facteurs accessoires de la nutrition ont mises à l'ordre du jour.

*Le Gérant : G. MASSON.*